

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene
und -technologie — Fachrichtung Fleischhygiene —
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Untersuchungen über mögliche Einflüsse auf die
hygienische und substantielle Beschaffenheit
des Fleisches beim Einsatz von industriell
getrocknetem Legehennenkot in der Rindermast**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus Troeger
Tierarzt aus Hof/Saale

Berlin 1983
Journal-Nr. 1146





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546607_0009

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie
- Fachrichtung Fleischhygiene -
des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Untersuchungen über mögliche Einflüsse auf die
hygienische und substantielle Beschaffenheit des Fleisches
beim Einsatz von industriell getrocknetem Legehennenkot in der Rindermast

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus Troeger
Tierarzt aus Hof/Saale

Berlin 1983
Journal-Nr. 1146

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher: Prof. Dr. F. Hörchner

Referent: Prof. Dr. G. Reuter

Korreferent: Prof. Dr. D. Schneider

Tag der Promotion: 16. September 1983

MEINER FAMILIE

1.1.1. Eltern

1.1.2. Brüder und Schwestern

1.1.3. Onkel und Tanten

1.1.4. Cousins und Nichten

1.1.5. Cousins und Nichten

1.2. Eltern

1.3. Brüder und Schwestern

1.4. Onkel und Tanten

1.5. Cousins und Nichten

1.6. Cousins und Nichten

1.7. Cousins und Nichten

1.8. Cousins und Nichten

1.9. Cousins und Nichten

1.10. Cousins und Nichten

1.11. Cousins und Nichten

1.12. Cousins und Nichten

1.13. Cousins und Nichten

1.14. Cousins und Nichten

1.15. Cousins und Nichten

1.16. Cousins und Nichten

1.17. Cousins und Nichten

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

A: EINLEITUNG	1
B: LITERATUR	2
1. <u>Anwendung von Geflügelkot und -streu in der Wiederkäuerfütterung</u>	2
1.1. <u>Aufbereitungsverfahren</u>	2
1.2. <u>Anwendung in Fütterungsversuchen und Praxis</u>	5
1.2.1. Einsatz von frischem Geflügelkot	5
1.2.2. Einsatz von getrocknetem Geflügelkot	5
1.2.3. Einsatz von anderweitig aufbereitetem Geflügelkot	6
2. <u>Rohnährstoffgehalte, Mengen- und Spurenelemente in Legehennenkot und -futter</u>	7
2.1. <u>Legehennenkot</u>	7
2.2. <u>Legehennenfutter</u>	7
3. <u>Rückstandsproblematik und toxikologische Aspekte</u>	7
3.1. <u>Legehennenfutter</u>	7
3.1.1. Nutritive Zusatzstoffe	7
3.1.2. Therapeutika	9
3.2. <u>Geflügelkot</u>	9
3.2.1. Mengen- und Spurenelemente	9
3.2.2. Arzneimittelrückstände	9
3.2.3. Bakterizide Substanzen und Toxine aus der Geflügelkot-Mikroflora	10
3.2.4. Kontaminationen aus der Umwelt (Schadstoffe)	11
3.3. <u>Schlacht tierkörper und Organe der mit Geflügelkot gefütterten Tiere</u>	12
3.3.1. Mengen- und Spurenelemente	12
3.3.2. Arzneimittelrückstände	13
3.3.3. Rückstände von Schadstoffen aus der Umwelt	14

4.	<u>Mikrobiologische Aspekte</u>	17
4.1.	<u>Mikroorganismen in Geflügelkot</u>	17
4.1.1.	Keimgehalt in frischem Legehennenkot	17
4.1.2.	Keimgehalt in Geflügelstreu aus Bodenhaltung	17
4.1.3.	Tenazität pathogener Keime in frischem Legehennenkot und bei verschiedenen Aufbereitungsverfahren	18
4.1.4.	Die Übertragungsmöglichkeit pathogener Keime durch Geflügel- kot	20
4.1.5.	Keimgehalt in getrocknetem Legehennenkot	20
4.2.	<u>Einflüsse auf die Mikroflora des Pansens beim Rind durch die Verfütterung von Legehennenkot</u>	21
4.2.1.	Mögliche Beeinflussung der Magen- Darmflora durch antago- nistische Wirkungen oral zugeführter Mikroorganismen	21
4.2.2.	Konzentrationsänderungen mikrobieller Stoffwechselprodukte (flüchtige Fettsäuren) im Pansen	23
5.	<u>Auswirkung der Verfütterung von Geflügelkot an Mastrinder auf die substantielle Beschaffenheit der Schlachttierkörper</u>	24
5.1.	<u>Physikalisch-chemische Parameter zur Fleischqualität</u>	24
5.1.1.	pH-Wert, Wasserbindungsvermögen, Kochverlust	24
5.1.2.	Rohnährstoffgehalte der Muskulatur	24
5.2.	<u>Sensorische Parameter</u>	25
5.2.1.	Geruch, Geschmack, Zartheit, Saftigkeit und Marmorierung	25
5.2.2.	Chemische Zusammensetzung des Muskeleiweißes und des intramuskulären Fettgewebes	25
6.	<u>Erkrankungen von Mastrindern durch Verfütterung von Geflügelkot</u>	26
6.1.	<u>Infektionen bzw. mikrobielle Intoxikationen</u>	26
6.2.	<u>Chemische Intoxikationen</u>	27
6.3.	<u>Chronische Organveränderungen</u>	27

1. <u>Versuchsansatz</u>	28
2. <u>Material und Methoden</u>	30
2.1. <u>Mikrobiologische Untersuchungen</u>	30
2.1.1. Probenmaterial	30
2.1.2. Erfassung der wesentlichen Keimgruppen	30
2.1.3. Vergleichende Erfassung von Bazillenstämmen aus Legehennentrockenkot, Maissilage und Magen- Darm- inhalt der Mastrinder	32
2.1.3.1. Morphologische Merkmale	32
2.1.3.2. Biochemische Merkmale	33
2.1.3.3. Nachweis von bacteriocinähnlichen Substanzen im Agardiffusions-Lochtest	33
2.1.3.4. Überprüfung der bacteriocinähnlichen Substanzen mit physikalisch-chemischen Methoden	34
2.2. <u>Untersuchungen auf Hemmstoffe</u>	35
2.2.1. Probenmaterial und -aufbereitung	35
2.2.2. Hemmstofftest nach Anlage 4 AB.A zum FIBG	36
2.2.3. Agardiffusions-Lochtest mit flüssigen Extrakten und verschiedenen Testkeimen	36
2.2.4. Identifizierungsversuche mit Dünnschichtchromato- graphie und Bioautographie	37
2.2.5. Modellversuch über die Stabilität von Zinkbacitracin	38
2.3. <u>Untersuchungen zur substantiellen Beschaffenheit von Muskulatur und Organen der Mastrinder</u>	39
2.3.1. Bestimmung der allgemeinen Fleischqualitäts- parameter (pH-Wert, Rigor, Wasserbindungsver- mögen) der Schlachttierkörper	39
2.3.2. Bestimmung von Gesamtwassergehalt und intramus- kulärem Fettgehalt der wertbestimmenden Teil- stücke der Schlachttierkörper	39
2.3.3. Sensorische Bewertung	40
2.3.3.1. Auswahl des Probenmaterials	40
2.3.3.2. Triangeltest, gekoppelt mit bewertender Prüfung	41
2.3.4. Darstellung von Protein- und Enzymmustern verschie- dener Muskeln und Organe mittels isoelektrischer Fokussierung	43
2.3.4.1. Prinzip der isoelektrischen Fokussierung	43
2.3.4.2. Probenauswahl und -aufbereitung sowie apparative Ausrüstung	43

2.3.4.3.	Proteinmuster von <i>M. longissimus dorsi</i> , <i>M. adductor</i> , Pankreas, Leber, Niere und Milz	44
2.3.4.4.	Enzymmuster von Leber und Niere	46
2.4.	<u>Prüfung einzelner klinisch-chemischer Parameter der</u> <u>Mastrinder</u>	47
2.4.1.	Bestimmung von Harnstoff im Serum	47
2.4.2.	Bestimmung der Enzyme GOT, GPT und alkalische Phosphatase im Serum	48
2.4.3.	Gaschromatographische Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft	48
2.5.	<u>Erhebung abweichender pathologisch-anatomischer Befunde</u>	49
3.	<u>Ergebnisse</u>	50
3.1.	<u>Mikrobiologische Befunde</u>	50
3.1.1.	Keimgehalt des getrockneten Legehennenkotes	50
3.1.2.	Keimgehalt der Maissilage	50
3.1.3.	Keimgehalt des Intestinaltraktes der Mastrinder	50
3.1.4.	Beeinflussung der Pansenmikroflora durch die im Lege- hennentrockenkot dominierenden Mikroorganismen der Gattung <i>Bacillus</i>	56
3.1.4.1.	Charakteristika und Identifizierung der Bazillen- isolate aus Legehennentrockenkot	57
3.1.4.2.	Häufigkeit des Nachweises von Bazillenstämmen des Futters im Pansensaft und/oder Darminhalt	57
3.1.4.3.	Bildung bacteriocinähnlicher Substanzen durch verschiedene Bazillenstämmen des Futters	62
3.2.	<u>Ergebnisse der Hemmstofftests und Schwermetalluntersuchungen</u>	64
3.2.1.	Antibakterielle Wirkungen bei Legehennentrockenkot und Maissilage	64
3.2.1.1.	Versuche zur Identifizierung dieser positiven Hemmstoffreaktionen	64
3.2.2.	Befunde beim Hemmstofftest gemäß Anlage 4 AB.A zum FIBG mit Muskel- und Organproben der Mastrinder	67
3.2.3.	Hemmstofftest-Befunde mit Muskel- und Organextrakten	70
3.2.4.	Schwermetallrückstände im Legehennentrockenkot	72
3.3.	<u>Substantielle Beschaffenheit der Schlachttierkörper</u> <u>und der Organe</u>	73
3.3.1.	Allgemeine Fleischqualitätsparameter (pH-Wert, Rigor, Wasserbindungsvermögen)	73

3.3.2. Gesamtwassergehalt und intramuskulärer Fettgehalt der Mm. adductor, longissimus dorsi und psoas major	76
3.3.3. Ergebnisse der sensorischen Tests	78
3.3.3.1. Triangeltest	78
3.3.3.2. Bewertende Prüfung	79
3.3.4. Vergleich der Protein- und Enzymmuster von Versuchs- und Kontrolltieren	82
3.3.4.1. Proteinmuster der Muskulatur	82
3.3.4.2. Proteinmuster von Pankreas, Leber, Niere und Milz	86
3.3.4.3. Unspezifische Esterasen in Leber und Niere	87
3.3.4.4. Saure Phosphatase in Leber und Niere	87
3.4. <u>Befunde der klinischen Laboruntersuchungen</u>	87
3.4.1. Harnstoffgehalt im Serum	87
3.4.2. GOT, GPT und alkalische Phosphatase im Serum	88
3.4.3. Konzentration der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion-, Isobutter-, Butter-, Isovalerian- und Valeriansäure im Pansensaft	88
3.5. <u>Pathologisch-anatomische Befunde</u>	92
D: DISKUSSION DER ERGEBNISSE	95
E: SCHLUSSFOLGERUNGEN	111
F: ZUSAMMENFASSUNG	113
G: SUMMARY	117
H: LITERATURVERZEICHNIS	121

A.

E I N L E I T U N G

Die Knappheit und die steigenden Kosten von Eiweißfuttermitteln einerseits und die Beseitigungsprobleme von tierischen Exkrementen aus Massentierhaltungen andererseits ließen in den letzten Jahren das direkte Recycling dieser Abfälle durch Verfütterung immer interessanter werden. Internationale Forschungen haben einen Stand erreicht, welcher beträchtliche Daten hinsichtlich des ernährungsmäßigen und ökonomischen Beitrags von verschiedenen Komponenten der tierischen Abprodukte verfügbar macht. In vielen Ländern, wie etwa den USA, England, Israel oder den osteuropäischen Staaten wird die Verfütterung tierischen Abfalls, wenn auch zum Teil mit Einschränkungen, praktiziert.

In der Bundesrepublik Deutschland ist die Verfütterung von Kot aufgrund der Futtermittelverordnung (1976) verboten. In der 3. Änd. VO zur FMV (1979) wurde in Anlage 6 Kot als verbotener Stoff aufgeführt mit der Begründung, dem in letzter Zeit zunehmenden Trend zu begegnen, Stoffe zur Vermeidung von Abfallbeseitigungskosten in der Tierernährung einzusetzen, obwohl sie nicht geeignet sind.

Nach Voruntersuchungen über die mikrobiologische und rückstandsmäßige Beschaffenheit von frischem und getrockneten Legehennenkot (REUTER et al., 1981) wurde in zwei Fütterungsversuchen in Zusammenarbeit mit der Abteilung Fleischhygiene des Bundesgesundheitsamtes und dem Institut für Tierzucht und Tierernährung der FU die Eignung von Legehennentrockenkot als Futterzusatz und Proteinquelle in der Rindermast untersucht.

In der vorliegenden Arbeit werden einerseits die Auswirkungen und gesundheitlichen Risiken für das Masttier sowie den Verbraucher, begründet auf der mikrobiologischen und rückstandsmäßigen Beschaffenheit des Trockenproduktes, untersucht. Andererseits werden Prüfergebnisse der substantiellen Fleischqualitätsparameter bei Versuchstieren im Vergleich zu Kontrolltieren mitgeteilt.



B.

L I T E R A T U R

1. Anwendung von Geflügelkot und -streu in der Rindermast

Als "Geflügelkot" werden die Exkremente (Kot und Harn) von Geflügel bezeichnet. Genauere Angaben über die Art des Geflügels werden in der angeführten Literatur oft nicht gemacht. Die englisch-sprachige Bezeichnung lautet "poultry manure". "Geflügelstreu" (Tiefstreu) stammt aus Bodenintensivhaltung, vorwiegend von Mastgeflügel. Die Bestandteile sind: Einstreu (Stroh, Sägespäne), Exkremente, Futterreste und Federn (HENNIG und POPPE, 1976). Unter "Legehennenkot" versteht man den Geflügelkot von batteriegehaltenen Legehennen, bestehend aus nicht verdauten Futterbestandteilen, abgestoßenen Darmepithelien, Rückständen von Sekreten, Mikroorganismen der Darmflora, mit dem Harn ausgeschiedenen Stoffwechselprodukten sowie exogenen Bestandteilen wie verstreutes Futter, Federn, Eiereste und Sand (HENNIG und POPPE, 1976).

1.1. Aufbereitungsverfahren

Einer Verwendung von Legehennenkot als Futterkomponente in unbearbeitetem Zustand stehen Hygiene- und Haltbarkeitsaspekte sowie die Schwierigkeit der technischen Handhabung einer Substanz mit ca. 75 % Feuchtigkeit entgegen. An Aufbereitungsverfahren wurden die Trocknung, Kompostierung, Silierung, Pelletierung sowie verschiedene chemische Behandlungsmethoden beschrieben.

Die industrielle Trocknung, international am häufigsten praktiziert, bietet günstige Gebrauchseigenschaften des Abfallproduktes, wie leicht transportierbar, industriell mischbar, geruchsarm und arm an Krankheitserregern (HENNIG und POPPE, 1976). Bei den verschiedenen Trocknungsverfahren handelt es sich meist um speziell entwickelte Trommel- oder Rosttrocknungsanlagen, die mit Heizöl, Gas oder Elektroenergie arbeiten (SURBROOK et al., 1970). Nach STRAUCH et al. (1977) kann die Trocknung nach vier prinzipiellen Verfahrenslinien erfolgen: (1.) Ohne Vorbehandlung des Kotes (problematisch bei hohem Feuchtegehalt des Ausgangsmaterials wegen Zusammenballen, Ankleben des Materials am Trockner), (2.) nach mechanischer Flüssigkeitsabtrennung, (3.) nach Vortrocknung, (4.) nach Mischen des Naßgutes mit Trockengut (bei den meisten Kottrocknungsanlagen üblich).

Bei der Wahl der Trocknungstemperatur sind Faktoren wie Keimabtötung, Nährstoff- und Aschegehalt zu berücksichtigen. LYSENKO et al. (1977) prüften Eingangstemperaturen von 500, 600 und 700⁰ C. Nach 35-minütiger thermischer Behandlung und Ausgangstemperaturen von 100, 130 und 150⁰ C war die Gesamtkeimzahl von 7.7×10^9 im Frischkot auf 1×10^4 , 5×10^3 bzw. 2×10^3 pro Gramm zurückgegangen. Ein Einfluß der unterschiedlichen Temperaturen auf die chemische Zusammensetzung konnte nicht festgestellt werden. Dagegen fanden SHEPPARD et al. (1971) ein umgekehrt proportionales Verhältnis zwischen der angewandten Temperatur und dem resultierenden Gesamtstickstoffgehalt in getrocknetem Legehennenkot.

Grundsätzliche Erhebungen über die Kompostierung von Legehennenkot stammen von BAADER et al. (1977). Bei ausreichendem Angebot von Feuchte und Sauerstoff für die an der Kompostierung beteiligten Mikroorganismen ist Hühnerkot ohne zusätzliche Hilfsstoffe kompostierbar. Während eine Kompostierung noch bei Feuchtegehalten unter 30 % möglich ist, hängt die obere Grenze des Feuchtegehaltes, bei welchem eine ausreichende Gasdurchlässigkeit noch sichergestellt ist, von der Feinstruktur des Gutes ab. Für Substrate mit Krümelstruktur konnten günstige Rottebedingungen innerhalb eines Feuchtebereiches von 30 % bis 60 % festgestellt werden. Lagerhöhen über 0.5 Meter führten wegen zunehmender Verdichtung und damit verminderter Gasdurchlässigkeit zu einer schlechteren Rotte. Die Behandlung von Legehennenkot durch Heißrotte führte zu einer erheblichen Umschichtung der wertbestimmenden Bestandteile. Rohasche und Rohfaser nahmen zu und Rohprotein, Gärssäuren und wasserlösliche Kohlenhydrate ab. Es besteht die Möglichkeit einer Senkung der Stickstoffverluste bei der Kompostierung durch Zusatz von Superphosphat.

Ein aus Kompostierung und Trocknung kombiniertes Aufbereitungsverfahren wurde unter dem Druck steigender Energiekosten von J. BRILL in den USA entwickelt ("BRILL DIGESTER"). Nach Vermischen des frischen Kotes mit gehäckseltem Stroh oder Heu kommt es zur Selbsterhitzung bis auf etwa 76⁰ C, wodurch ein Großteil des Wassers verdunstet. Anschließend wird in einer besonderen Vorrichtung das Material durch Drehen mit hoher Geschwindigkeit vollends getrocknet. So können in 48 Stunden 10 Tonnen Hühnerexkreme in 5 Tonnen trockene, geruchlose Flocken verwandelt werden. Energiekosten fallen nur für den Elektromotor an (DOLAN, 1981).

Auch die Gärfutterbereitung (Silierung) von Legehennenkot kann Haltbarkeit, Lagerfähigkeit und Hygienisierung (Abtötung vegetativer Krankheitserreger) positiv beeinflussen (HARMON et al., 1975; McCASKEY und ANTHONY, 1975). Das grundsätzliche Problem der Konservierung durch einen anaeroben Gärungsprozeß liegt darin, daß bei Geflügelkot die hohe Pufferkapazität als Folge des hohen Rohasche- und Rohproteingehaltes, der niedrige Gehalt an wasserlöslichen Kohlenhydraten und der Intestinal-Keimbesatz einer schnellen pH-Absenkung und damit einer spontanen Milchsäuregärung entgegenwirken (BAADER et al., 1977). CLAYBAUGH (1975) erzielte gute Silagen mit 50 % Batteriekot und 50 % fein gehäckseltem Stroh und Heu; BAADER et al. (1977) kam auch mit den Feststoffen von Hühnerflüssigmist und Zusatz von 5 - 8 % Ameisensäure zu brauchbaren Ergebnissen.

Eine Pelletierung getrockneter Legehennenexkremente erfordert Zuschlagsstoffe, weil sonst sehr harte Pellets entstehen, die von den Rindern nur zögernd aufgenommen werden. Rauhfutter oder Gerste haben sich hier bewährt (ERNST und WOLTER, 1970; HENNIG und POPPE, 1976).

Die chemische Behandlung tierischer Abfälle kann ebenfalls eine Dekontamination von pathogenen Mikroorganismen, eine Verbesserung der Verdaulichkeit und eine Reduzierung von Nährstoffverlusten bewirken. CASWELL et al. (1972) beschrieben folgende wirkungsvolle Verfahren für Geflügelstreu: Trockene Hitze von 150° C 20 min. ohne Zusätze oder 15 min. mit Paraformaldehyd-Zusatz (1 g/100 g Streu), Äthylenoxid-Begasung bei 22° C und einem Vakuum von 2.5 mm Hg für 60 min. oder feuchte Hitze von 119° C unter einem Druck von 6.8 kg für 10 min. GILLIES (1978) beschrieb ein Aufbereitungsverfahren für Geflügelkot, das ein pathogenfreies und stabiles Endprodukt als Beimischung zu Futtermittelrationen ergibt. Der Aufbereitungsprozeß beinhaltet folgende Schritte: Zunächst wird durch Säurezugabe zu frischem Geflügelkot der freie Ammoniak in weniger flüchtige Ammoniumsalze übergeführt. Der Rest der Säure wirkt als Katalysator für eine Polymerisationsreaktion. Weiterhin wird zur Keimabtötung dem angesäuerten Geflügelkot Formaldehyd untergemischt. Dann erfolgt eine Zugabe von Harnstoff. Harnstoff und Formaldehyd reagieren in Gegenwart von Katalysatoren, wie etwa Säuren, zu einem Polymerisationsprodukt. Es schließt sich die Trocknung an (Feuchtegehalt 15 %). Das Produkt stellt im Verdauungstrakt eine verzögert und kontinuierlich freisetzen-

Rohproteinquelle dar.

1.2. Anwendung in Fütterungsversuchen und Praxis

1.2.1. Einsatz von frischem Geflügelkot

Untersuchungen über Masterfolg, Fleischqualität und Übertragungsmöglichkeit pathogener Keime bei der Verfütterung frischer Legehennenexkreme an Bullenkälber bzw. Bullen wurden von SMITH et al. (1978 a, b) in Kanada angestellt. Außer verringerten Lebendgewichtszunahmen bei den mit Exkrementen gefütterten Kälbern konnten keine nachteiligen Wirkungen festgestellt werden. Bei Bullen, die mit Säure behandelten frischen Legehennenexkrementen gefüttert worden waren, fanden SMITH et al. (1979) dagegen bessere Ausschlachtergebnisse. Aus einem Bericht von DOLAN (1981) geht hervor, daß trotz der schwierigen technischen Handhabung bisweilen frischer, unbehandelter Geflügelkot in den USA in der Rinderfütterung eingesetzt wird. Es ist aufgrund von Einzelhinweisen in der Literatur zu vermuten, daß frischer Geflügelkot auch im Bereich der osteuropäischen Länder zum Einsatz kommt. Nach ERNST und WOLTER (1970) wurde in der DDR bereits 1970 eine Richtlinie erlassen, um den Einsatz frischer Broilertiefstreu als Futtermittel veterinärhygienisch zu überwachen.

1.2.2. Einsatz von getrocknetem Geflügelkot

Die Anwendung von Geflügelkot in der Fütterungspraxis erfolgt zumeist in getrockneter Form. Dabei wurden in verschiedenen Ländern mit der Zulassung des Trockenproduktes als Futtermittel bestimmte Standardqualitäten gefordert. So ist in Israel seit 1970 "getrockneter und dekontaminierter Geflügelkot" folgendermaßen definiert: Getrocknet bei 130⁰ C für 10 bis 12 min., Feuchtegehalt des Kotes vor Hitzetrocknung nicht höher als 17 % (Vortrocknung erforderlich) und nach Trocknung nicht höher als 12 %. An den Rohnährstoffgehalt und die mikrobielle Beschaffenheit werden folgende Anforderungen gestellt: Gesamtprotein mindestens 20 %, Asche maximal 25 %, Rohfaser bis 20 % und Freiheit von gramnegativen Keimen (SAVIR, 1978). In den Niederlanden darf getrockneter Geflügelkot nur verfüttert werden, wenn es sich um "künstlich getrockneten Kot von Legehennen aus Käfighaltung" (ohne Stroh) handelt, dessen Kokzidiostatika-Gehalt unter 0.01 ppm liegt und in dem keine Salmonellen nachweisbar sind. Der

Einsatz dieses Produktes ist auf Mastbullen beschränkt (DE BOER, 1981). In England, wo jährlich etwa 100.000 Tonnen getrockneten Geflügelkotes, hauptsächlich an Rinder verfüttert werden (N.N. 1976), ist der Kot einer "Protein Processing Order" unterworfen (WILSON und BRIGSTOCKE, 1977). Aus Polen liegen von GANCZAREK (1979) technologische Angaben hinsichtlich Material, Lagerung und Trocknung zur Sicherstellung einer Standardqualität von Geflügelkot und -streu, bestimmt zur Verfütterung, vor.

Fütterungsversuche, die sich mit dem Einsatz von getrocknetem Legehennenkot in der Rindermast befaßten, kamen überwiegend zu positiven Resultaten (EL-SABBAN et al., 1970; MEREGALLI et al., 1972; BUGDOL und BRANDAU, 1972; TINNIMIT und THOMAS, 1972; FELKL et al., 1974; FONTENOT und WEBB, 1974; SMITH, 1974; GILKA et al., 1980; MIKULIK et al., 1980; DE BOER, 1980; GILKA et al., 1981a). ERNST und WOLTER (1970) ermittelten ein besseres Ausschlachtergebnis und eine geringere Fettabdeckung. Auch TAGARI (1978) wies im Zusammenhang mit dem relativ geringen Energieinhalt von Trockenkot darauf hin, daß bei der intensiven Rindermast durch richtig dosierten Einsatz von Geflügeltrockenkot ein geringerer Fettansatz bei gleichbleibender Lebendgewichtszunahme erzielt werden kann. Ein schlechteres Mastergebnis durch den Einsatz von getrocknetem Legehennenkot in der Ration fanden BUCHOLTZ et al. (1971) sowie CULLISON et al. (1976).

1.2.3. Einsatz von anderweitig aufbereitetem Geflügelkot

Für die Silierung von Geflügelkot diente als Ausgangsmaterial meist Geflügelstreu, da Kot allein zur Silierung nicht geeignet ist (BAADER et al., 1977). Die Verfütterung so aufbereiteter Broilertiefstreu brachte keine negativen Auswirkungen hinsichtlich Mastleistung und Fleischqualität (CREGER et al., 1973; CROSS et al., 1978). DE BOER (1980) berichtete über einen Mastversuch mit einer Silage aus einem Legehennenkot-Maisgemisch. Nach anfänglicher Adaptionsphase war die Mastleistung der Bullen zufriedenstellend. Auch die Verfütterung von autoklaviertem Legehennenkot war nicht mit nachteiligen Wirkungen verbunden (EL-SABBAN et al., 1970). In der Praxis wird die Silierung als fütterungsgerechte und energiesparende Aufbereitung von Geflügelkot häufig angewandt. So berichtete TAGARI (1978), daß in Israel die Silierung tierischer Exkremente vor der Verfütterung an Wiederkäuer routinemäßige Praxis geworden ist.

2. Rohnährstoffgehalte, Mengen- und Spurenelemente in Legehennenkot und -futter

2.1. Legehennenkot

Über den Rohnährstoffgehalt von Legehennenkot und Legehennentrockenkot liegen zahlreiche Literaturangaben vor. Frischer Legehennenkot besitzt einen Trockensubstanzanteil von 20 - 30 %; die Trockensubstanz setzt sich folgendermaßen zusammen: Rohprotein 30 - 40 %, Rohfett 2 - 5 %, Rohfaser 9 - 16 %, Rohasche 21 - 26 % und stickstoff-freie Extraktstoffe ca. 30 % (BUGDOL und BRANDAU, 1972; SMITH et al., 1978 a, b; TAGARI, 1978).

Die in getrocknetem Legehennenkot vorliegenden Rohnährstoffgehalte sind aus Tab. 1 ersichtlich. Die Rohproteingehalte bestehen zu 20 - 50 % aus NPN-(non-protein-nitrogen) Verbindungen, wobei Harnsäure den größten Anteil ausmacht (BIELEY et al., 1972; HENNIG und POPPE, 1976).

Entsprechend dem relativ hohen Aschegehalt enthalten Legehennentrockenexkremente beachtliche Mengen an Mineralstoffen. Die Gehalte an Mengen- und Spurenelementen gehen aus Tab. 2 hervor.

2.2. Legehennenfutter

Der DLG-Standard "Mischfutter für Geflügel" (1979) sieht für Legehennen-Alleinfutter I bzw. II folgende Nähr-, Wirk- und Mineralstoffe (Mindestgehalte, auszugsweise) vor: Rohprotein 15.0 bzw. 13.5 %, Kalzium 3.0-4.0 % bzw. 3.2-4.5 %, Phosphor 0.5-0.8 %, Natrium 0.12-0.3 %, Mangan 40 ppm und Zink 60 ppm.

3. Rückstandsproblematik und toxikologische Aspekte

Die Suche nach Rückständen im Trockenkot muß zunächst von den mit dem Futter legal zugeführten Wirk- und Zusatzstoffen sowie dem Einsatz möglicher Therapeutika ausgehen.

3.1. Legehennenfutter

3.1.1. Nutritive Zusatzstoffe

Nach der FMV Anlage 3 (1976) sind in Legehennenfutter als nutritive Antibiotikazusätze erlaubt: Zinkbacitracin (15 - 100 mg/kg), Flavophospholipol (2 - 5 mg/kg). Kokzidiostatika dürfen in Legehennenfutter als Zusatzstoffe nicht verabreicht werden. Zinkbacitracin ist als Zusatzstoff in Mastrinder-Rationen nicht zugelassen.

Tab. 1

Rohnährstoffgehalt von getrocknetem Legehennenkot
(in % der Trockensubstanz)

Land	Autor	Jahr	TrS	Roh- prot.	Roh- fett	Roh- faser	Roh- asche
USA	Wehnt et al.	1960	95.7	19.9	1.4	12.2	23.3
Kanada	Biely et al.	1972	90.6	31.1	1.6	10.7	23.8
DDR	Bugdol & Brandau	1972	81.4	27.4	1.9	11.2	18.2
DDR	Felkl et al.	1974	91.6	14.2	2.5	23.9	19.6
			91.2	15.0	2.4	20.9	19.5
			92.2	14.1	2.6	21.3	22.1
USA	Cullison et al.	1976	93.2	37.8	0.5	8.3	25.3
USA	Bruhn et al.	1977	90.7	24.1	1.7	11.9	34.4
D	Reuter et al.	1981	91.7	21.4	2.1	13.1	29.1
		$\bar{x}_a$	90.9	22.8	1.9	14.8	23.9
		s	3.9	8.2	0.7	5.6	5.2

Tab. 2

Mengen- und Spurenelemente in getrocknetem Legehennenkot

Land	Autor	Jahr	Ca %	P %	Mg %	Na %	K %	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm
Kanada	Biely et al.	1972	8.3	2.0				920	25	60	250
USA	Bruhn et al.	1977	9.1	2.7					51.1		
Kanada	Smith et al.	1978b	10.9	1.7	0.5	0.34	1.8	686.8	33.3		244.5
			8.3	1.3	0.5	0.31	1.6	437.1	33.5		217.5
Kanada	Smith et al.	1979	7.2	2.5	0.49	0.21	3.2	357.8	37.7	108.8	112.8
CSSR	Gilka et al.	1980a						1632	26.2	581.4	249.3
D	Reuter et al.	1981	7.2	1.9		0.33			68		
		$\bar{x}_a$	8.5	2.0		0.30		806.7	39.3		214.8
		s	1.4	0.5		0.06		511.5	15.3		58.6

3.1.2. Therapeutika

Wie aus einem Bericht des Ausschusses "Rückstandsprobleme durch Arzneimitteltherapie" der DVG (1980) hervorgeht, können selbst bei gut geführten und regelmäßig tierärztlich betreuten Legehennenbeständen medikamentelle Behandlungen ein- oder zweimal pro Jahr notwendig werden. Dabei wird bei bestimmten Enteritiden auf Antibiotika mit niedriger Resorptionsrate zurückgegriffen (z.B. Bacitracin, Neomycin, Streptomycin, Sulfachlorpyrazin), was zu erheblichen Konzentrationen dieser Substanzen auch im Kot führt. Die Bekämpfung von Bakteriämien ist jedoch ohne systemisch wirkende Chemotherapeutika, wie insbesondere den Tetracyclinen, nicht möglich. Auch hier sind Ausscheidungen mit den Exkrementen zu erwarten.

Durch die bei der Anwendung von Chemotherapeutika und Antibiotika vorgeschriebenen Wartezeiten ist theoretisch eine Verwendung der Eier aus der Legehennenhaltung unterbunden. Ob auch der Kot aus dieser Phase separat behandelt und verwendet wird, ist anzuzweifeln.

Durch die ungünstige Kosten-Erlös-Situation in der Legehennenhaltung muß befürchtet werden, daß die Geflügelhalter mitunter auch zur Selbsthilfe greifen, wodurch ein breites Spektrum an Chemotherapeutika unkontrolliert in den Kot gelangen kann. Eine gezielte Kontrolle des aufbereiteten zur Fütterung bestimmten Legehennenkotes auf Behandlungsrückstände ist also immer angezeigt.

3.2. Geflügelkot

3.2.1. Mengen- und Spurenelemente

Der hohe Mineralstoffgehalt in Legehennentrockenkot übersteigt den normalen Bedarf der Mastrinder und kann nach GRUGEL (1970) zu einer verstärkten Mineralisation des Skelettes führen. Vereinzelt wurden in Geflügelkot auch sehr hohe Kupfergehalte gefunden. COUCH (1972) ermittelte in Broilerstreu-Silage 200 ppm Kupfer, eine bei massiver Verfütterung an Schafe bereits toxische Konzentration.

3.2.2. Arzneimittelrückstände

Die Problematik der Arzneimittelrückstände beim Recycling von Geflügelkot als Futterkomponente muß differenziert gesehen werden und beginnt bei den Geflügelfutter-Zusatzstoffen (Wachstumsförderer, wie organische Arsen-

-verbindungen, Kupfersulfat; nutritive Antibiotika, wie Zinkbacitracin, Flavomycin; Kokzidiostatika, wie Amprolium, Furazolidin). Die futtermittelrechtlichen Bestimmungen für diese Substanzen sind bei wachsendem Geflügel (Junghennen, Mastgeflügel) einerseits und bei Legehennen andererseits, sowie in verschiedenen Ländern unterschiedlich.

So gibt es über Arzneimittelrückstände in Legehennenkot wenig Angaben, da der Einsatz von Fütterungsarzneimitteln in Legebetrieben stark eingeschränkt ist. In vielen Ländern werden organische Arsenverbindungen als Geflügelfutterzusätze verwendet, um Wachstum und Eiproduktion zu fördern (BHATTACHARYA und TAYLOR, 1975). EL-SABBAN et al. (1969) fanden in Legehennenstreu in den USA Arsenrückstände von 29 ppm. BHATTACHARYA und TAYLOR (1975) berichteten über einen durchschnittlichen Arsengehalt von 1.1 ppm in 5 Proben frischen Legehennenkotes in den USA. Der Versuch von BRUGMAN et al. (1964), in Legehennenstreu die Kokzidiostatika bzw. Chemotherapeutika Zoalen, Unistat, Nicarbazin, Furan oder Sulfaquinoxalin nachzuweisen, erbrachte für alle Stoffe ein negatives Ergebnis. Die in der Bundesrepublik für Legehennenfuttermischungen zugelassenen Zusatzstoffe Zinkbacitracin und Flavomycin konnten in 3 untersuchten frischen Legehennenkot-Proben und in 11 untersuchten Legehennentrockenkot-Chargen nicht nachgewiesen werden (REUTER et al., 1981).

Vielfältiger sind die Literaturangaben hinsichtlich Arzneimittelrückständen in Broilerkot bzw. -streu. WEBB und FONTENOT (1972) fanden in Broilerstreu aus verschiedenen Geflügelbetrieben in Virginia folgende Rückstände (mittlere Konzentrationen): Oxytetracyclin 10.9 ppm, Chlortetracyclin 12.5 ppm, Nicarbazin 81.2 ppm, Amprolium 27.3 ppm, Arsen 34.8 ppm, Penicillin 12.3 U/g und Zinkbacitracin 7.2 U/g. Neomycin wurde nicht gefunden. Des weiteren berichteten BRUGMANN et al. (1968), MESSER et al. (1971) und RUIZ, A. und RUIZ, M.E. (1979) über teilweise beträchtliche Rückstände der Kokzidiostatika Forazolidon, Nitrofurazon und Amprolium in Geflügelstreu.

3.2.3. Bakterizide Substanzen und Toxine aus der Geflügelkot-Mikroflora

Antibiotische Substanzen in Legehennenkot müssen nicht immer exogen zugeführt worden sein, sondern können auch aus der Kotmikroflora resultieren. ROYAL und MUTIMER (1972) berichteten über anaerobe Kulturen aus Hühner-Caecalinhalt (Wachstum bei pH 5.5), welche das Wachstum von *S. typhimurium*

hemmen. Die hitzesterilisierten Kulturen sowie Ätherextrakte dieser Kulturen zeigten denselben Effekt. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen RIGBY und PETTIT (1980) mit Lyophilisaten aus Kot und anaeroben Kotkulturen. DORN und KRABISCH (1981) verabreichten an Küken den Caecalinhalt älterer Hühner und konnten so eine nachfolgende Salmonellenbesiedlung hemmen. Dieser Effekt wurde erstmals von NURMI und RANTALA (1973) beobachtet. Auch IMPEY et al. (1982) konnten durch die orale Gabe einer definierten Bakterienmischkultur (Laktobazillen, Streptokokken, E. coli, Bazillen, Clostridien und Bacteroides spp.) aus Caecalinhalt älterer Hühner an Küken eine Resistenz gegenüber S. typhimurium herbeiführen. Antibakteriell wirksame Substanzen konnten nach Extraktion in Legehennentrockenkot nachgewiesen werden (REUTER et al., 1981). Es handelte sich offenbar um Stoffwechselprodukte der Bazillenflora des Trockenkotes.

Als weitere Produkte der Kotmikroflora müssen Mykotoxine in Betracht gezogen werden. Günstige Wachstumsbedingungen für Pilze sind vor allem bei Bodenhaltung des Geflügels auf Tiefstreu gegeben. LOVETT et al. (1971) konnten bei Untersuchungen von Geflügelstreu verschiedener Farmen in Ohio 17 Pilzkulturen identifizieren. Dominierend waren Penicillium, Aspergillus, Scopulariopsis und Candida, wobei Aspergillus fumigatus und Scopulariopsis spp. als besonders toxisch gelten.

3.2.4. Kontaminationen aus der Umwelt (Schadstoffe)

An gesundheitlich bedenklichen Kontaminationen aus der Umwelt können in Geflügelkot, ebenso wie in konventionellen Futtermitteln, toxische Schwermetalle und Pestizide vorkommen. Wegen der geringen enteralen Resorption vieler Schwermetalle - Cadmium z.B. wird von Nutztieren durchschnittlich zu 5 % resorbiert (BINKO, 1982) - kommt es im Kot jedoch im Vergleich zum Futtermittel zu einer Anreicherung dieser Elemente. Die von verschiedenen Autoren in Legehennenkot gefundenen Gehalte an Cadmium, Blei, Kupfer und Arsen, das nicht nur durch Wachstumsförderer, sondern auch als Herbizid (EGYED, 1978) oder Verbrennungsrückstand von Heizöl in den Kot gelangen kann, sind in Tab. 3 zusammengestellt.

Pestizide können zum einen aus dem Futter in die Exkremente übergehen, zum anderen den Exkrementen aber auch direkt, etwa in Form von Stalldesinfektionsmitteln, Insektiziden oder Fungiziden zugeführt werden. Über Rückstände von Rabon (2-Chloro-1-trichlorophenyl) in Legehennenkot

berichteten WASTI et al. (1970), USA. Rabon wird als Insektizid eingesetzt, um Fliegenlarven im Kot abzutöten.

DDE enthielten 2 von 10 untersuchten Geflügelstreu-Proben in Mengen von 0.01 und 0.02 ppm in Ohio (MESSER et al., 1971). FONTENOT et al. (1971a) fanden eine durchschnittliche Konzentration von 0.095 ppm DDT und Metaboliten in 13 Broilerstreu-Proben aus verschiedenen Betrieben in Virginia.

Tab. 3

Schwermetallrückstände in Legehennenkot
(in der Trockensubstanz)

Land	Autor	Jahr	Rückstand	Menge (ppm)
USA	El-Sabban et al.	1969	Arsen	29
Canada	Smith et al.	1978	Arsen	0.35
USA	Bruhn et al.	1977	Cadmium	1.3
Canada	Smith et al.	1978	Cadmium	0.5
CSSR	Gilka et al.	1980	Cadmium	1.04
CSSR	Gilka et al.	1981	Cadmium	0.95
USA	Bruhn et al.	1977	Blei	7.0
CSSR	Gilka et al.	1980	Blei	1.6
CSSR	Gilka et al.	1981	Blei	0.25
USA	Couch	1972	Kupfer	61
USA	Bruhn et al.	1977	Kupfer	51.1
D	Reuter et al.	1981	Kupfer	68

3.3. Schlachttierkörper und Organe der mit Geflügelkot gefütterten Tiere

3.3.1. Mengen- und Spurenelemente

SMITH et al. (1978 b) bestimmten den Gehalt an Kalzium, Phosphor und Kupfer in Leber, Niere, Herz und M. longissimus dorsi von mit Legehennenkot gefütterten Mastbullen sowie Kontrolltieren. Obgleich der mit der Ration aufgenommene Gehalt an diesen Elementen bei den Versuchstieren signifikant höher war, waren die Gewebekonzentrationen praktisch gleich und lagen im Normalbereich (UNDERWOOD, 1971). Ebenfalls keine Unterschiede bei den

Gehalten an Kupfer, Zink und Eisen fanden GILKA et al. (1980) in Leber und *M. longissimus dorsi* zwischen mit tierischen Exkrementen gefütterten Bullen und Kontrolltieren. Im Gegensatz hierzu konnten GILKA et al. (1981 b) bei mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefütterten Bullen signifikant höhere Kupferwerte in Leber und Zwerchfell feststellen. Die Gehalte an Mangan und Eisen unterschieden sich nicht signifikant.

3.3.2. Arzneimittelrückstände

Die Mehrzahl der Autoren berichteten von negativen oder zumindest unbedenklichen Befunden bei der Suche nach Arzneimittelrückständen im tierischen Gewebe, selbst nach Verfütterung von Geflügelkot oder -streu mit Rückständen dieser Art. So verfütterten WEBB und FONTENOT (1972) Broilerstreu, die Rückstände der Antibiotika Penicillin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Neomycin und Zinkbacitracin enthielt, an Mastbullen. In den Geweben der Bullen fanden sich keine Spuren dieser Antibiotika, mit Ausnahme von geringen Chlortetracyclin-Gehalten (0.04 ppm) im Nierenfett. GILKA et al. (1981b) untersuchten Muskulatur, Leber und Niere von mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefütterten Bullen sowie von Kontrolltieren auf antibakterielle Substanzen. Es wurde der mikrobiologische Hemmstofftest mit den Testkeimen *B. cereus* var. *mycoides* ATCC 11778, *B. subtilis* ATCC 6633, *Mc. luteus* ATCC 9341 sowie *Mc. flavus* ATCC 10240 durchgeführt. Die bei 62 % der Versuchstiere und bei 50 % der Kontrolltiere festgestellten positiven Ergebnisse, die jeweils nur bei Muskelproben auftraten, wurden als unspezifische Hemmungen gewertet. Antibiotikarückstände waren also nicht vorhanden.

BRUGMAN et al. (1968) konnten keine Rückstände des Kokzidiostatikums Amprolium und des Wachstumsförderers 3-Nitro-Hydroxyphenylarsonsäure in Herz, Milz, Muskulatur, Niere, Nierenfett, Leber oder Gehirn von Lämmern feststellen, die Geflügelstreu erhalten hatten, welche diese Substanzen enthielt. Ebenso fanden CREGER et al. (1973) nach Verfütterung von Broilerstreu-Silage an Mastbullen weder Amprolium, Ethopabate, Zinkbacitracin noch 3-Nitro-Hydroxyphenylarsonsäure - alles Substanzen, welche das Broilerfutter enthalten hatte - in Muskel-, Leber- oder Fettgewebe der Mast-rinder.

Bei den Untersuchungen von SMITH et al. (1978 b) unterschieden sich die Gewebe- Arsengehalte der mit Legehennenkot gefütterten Mastbullen nicht von denen der Kontrolltiere. Dagegen stellten EL-SABBAN et al. (1970)

signifikant höhere Arsengehalte in Lebergewebe von Mastbullen, gefüttert mit getrocknetem Legehennenkot, fest (Tab. 4).

3.3.3. Rückstände von Schadstoffen aus der Umwelt

Von besonderem Interesse sind Untersuchungen der Masttiergewebe auf toxische Schwermetalle, da durch die Trockenkotfütterung mit einer erhöhten oralen Aufnahme dieser Substanzen gerechnet werden muß. SMITH et al. (1978 b) verglichen den Cadmium- und Bleigehalt in Leber, Niere, Herz und *M. longissimus dorsi* von mit Legehennenkot gefütterten Mastbullen mit den entsprechenden Gehalten bei Kontrolltieren. Die Gewebekonzentrationen beider Tiergruppen waren ähnlich ($P > 0.05$) und lagen im Normalbereich (UNDERWOOD, 1971). Ebenfalls keine Unterschiede bei den Cadmium- und Bleigehalten in Leber, *M. longissimus dorsi* und Zwerchfell zwischen mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefütterten Bullen und Kontrolltieren fanden GILKA et al. (1981b) Tab. 4 .

Auch die gefundenen Pestizidgehalte lagen durchweg niedrig. EL-SABBAN et al. (1970) verglichen die Gehalte der chlorierten Kohlenwasserstoffe DDT, DDE, TDE und Endrin im Rücken Fett von Mastbullen mit und ohne Legehennen-trockenkot-Fütterung. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Rückstände von Lindan, Aldrin, Dieldrin, Heptachlor und Heptachlorepoxyd konnten nicht nachgewiesen werden. Auch DE BOER (1980) fand im Nieren-fett von Bullen, gefüttert mit getrocknetem Legehennenkot, Pestizid-gehalte (HCB, α -HCH, β -HCH, Lindan, Heptachlorepoxyd, Dieldrin, DDT), die weit unter den in den Niederlanden geltenden Toleranzgrenzen lagen und die sich von den bei Kontrolltieren ermittelten Gehalten kaum unterschieden. GILKA et al. (1981b) untersuchten Muskulatur und Fett von mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefütterten Bullen sowie von Kontrolltieren auf HCB, Lindan und DDE. Zwischen beiden Tiergruppen zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (Tab. 5).

Tab. 4

Rückstände von Schwermetallen in Schlachttierkörpern von mit Legehennenkot
gefütterten Mastbullen sowie von Kontrolltieren

Land	Autor	Jahr	Schwer- metall	unters. Gewebe	Menge (ppm der TrS)		Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
					$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
USA	El-Sabban et al.	1970	Arsen	Leber	0.38 ⁺				0.12 ⁺	
Kanada	Smith et al.	1978b	Arsen	Leber	0.02	0.006			0.04	0.006
			Arsen	Niere	0.03	0.006			0.03	0.006
			Arsen	Herz	0.02	0.01			0.03	0.01
			Arsen	LD	0.02	0.006			0.03	0.006
Kanada	Smith et al.	1978b	Blei	Leber	0.11 ^o				0.11	
CSSR	Gilka et al.	1981b	Blei	Leber	0.52	0.19			0.54	0.09
Kanada	Smith et al.	1978b	Blei	Niere	0.11				0.11	
			Blei	Herz	0.11				0.11	
			Blei	LD	0.11				0.11	
CSSR	Gilka et al.	1981b	Blei	LD	0.45	0.15			0.45	0.19
			Blei	D	0.44	0.32			0.41	0.10
Kanada	Smith et al.	1978b	Cadmium	Leber	0.11	0.07			0.20	0.07
CSSR	Gilka et al.	1981b	Cadmium	Leber	0.15	0.04			0.16	0.03
Kanada	Smith et al.	1978b	Cadmium	Niere	0.76	0.16			0.94	0.16
			Cadmium	Herz	0.10	0.04			0.10	0.04
			Cadmium	LD	0.10	0.06			0.20	0.06
CSSR	Gilka et al.	1981b	Cadmium	LD	0.10	0.04			0.14	0.08
			Cadmium	D	0.12	0.05			0.09	0.03
Kanada	Smith et al.	1978b	Kupfer	Leber	21.8	7.6			33.6	7.6
CSSR	Gilka et al.	1980	Kupfer	Leber	10.0				14.1	
CSSR	Gilka et al.	1981b	Kupfer	Leber	12.0 ⁺	4.94			4.68 ⁺	1.87
Kanada	Smith et al.	1978b	Kupfer	Niere	95.8	26.6			40.2	26.6
			Kupfer	Herz	46.3	19.2			57.0	19.2
			Kupfer	LD	0.04 ^o				0.04	
CSSR	Gilka et al.	1980	Kupfer	LD	0.2				0.3	
CSSR	Gilka et al.	1981b	Kupfer	LD	0.32	0.09			0.37	0.07
			Kupfer	D	1.33	0.2			0.99	0.37

+ = signifikanter Unterschied (P = 0.05), o = Nachweisgrenze, TrS = Trocken-
substanz, LD = M. longissimus dorsi, D = Diaphragma

Tab. 5

Pestizid-Rückstände in Fett von mit Legehennenkot gefütterten Mastbullen
sowie von Kontrolltieren

Land	Autor	Jahr	Pestizid	unters. Gewebe	Menge (ppm)	
					V-gruppe	Ko-gruppe
USA	El-Sabban et al.	1970	DDT	Rückenfett	0.08	0.08
CSSR	Gilka et al.	1980	DDT	Fett	0	0
NL	De Boer	1980	DDT	Nierenfett	0.10	0.09
USA	El-Sabban et al.	1970	DDE	Rückenfett	0.10	0.06
CSSR	Gilka et al.	1980	DDE	Fett	0.04	0.03
CSSR	Gilka et al.	1981b	DDE	Fett	0.14	0.15
USA	El-Sabban et al.	1970	TDE	Rückenfett	0.10	0.08
NL	De Boer	1980	HCB	Nierenfett	0.10	0.15
CSSR	Gilka et al.	1980	HCB	Fett	2.05	2.06
CSSR	Gilka et al.	1981b	HCB	Fett	0.33	0.31
NL	De Boer	1980	Lindan	Nierenfett	0.07	0.52
CSSR	Gilka et al.	1980	Lindan	Fett	0	0
NL	De Boer	1980	Dieldrin	Nierenfett	0.07	0.06
NL	De Boer	1980	Heptachlor- epoxyd	Nierenfett	0.06	0.06

V-gruppe = Versuchsgruppe

Ko-gruppe = Kontrollgruppe

4. Mikrobiologische Aspekte

4.1. Mikroorganismen in Geflügelkot

Der mikrobiologische Status ist abhängig vom Ausgangsmaterial, der Lagerungsdauer sowie der Art der Kottaufbereitung.

4.1.1. Keimgehalt in frischem Legehennenkot

Frischer Hühnerkot muß als potentieller Träger verschiedener pathogener Mikroorganismen angesehen werden. KRAFT et al. (1969) fanden zahlreiche Salmonella-Serotypen in frischem Hühnerkot. SMITH et al. (1978 a, b) konnten aus 7 von 12 frischen Legehennenkot-Chargen Salmonellen isolieren. In 6 von 7 Chargen frischen Legehennenkotes eines großen Legebetriebes in der Bundesrepublik ließen sich Salmonellen nachweisen. Es wurden insgesamt 8 verschiedene Spezies isoliert, wobei *S. thomasville* und *S. montevideo* überwogen. Die Gesamtkeimzahl der Frischkot-Chargen betrug im Mittel $\bar{x} = 8.47$ ($\log n$), die hauptsächlichsten Keimfloraanteile waren Bazillen, Mikrokokken, Enterokokken, Enterobacteriaceae, Pseudomonaden und Laktobazillen. Clostridien kamen nur in geringen Mengen vor (REUTER et al. 1981).

4.1.2. Keimgehalt in Geflügelstreu aus Bodenhaltung

Geflügelstreu wird vielfach bereits unbehandelt verfüttert (ALEXANDER et al., 1968; ERNST und WOLTER, 1970), weshalb der Gehalt an (pathogenen) Mikroorganismen von besonderem Interesse ist. ALEXANDER et al. (1968) untersuchten die mikrobielle Beschaffenheit von 44 Geflügelstreu-Proben (27 Broiler-, 15 Lege- und 2 Putenmastbetriebe) aus verschiedenen Provinzen Kanadas, die überwiegend an Rinder verfüttert wurden. Aus 3 Proben wurden Salmonellen isoliert, Mykobakterien wurden in 2 Hühnerstreu-Proben und Clostridien (8 x *Cl. perfringens*, 1 x *Cl. chauvoei*, 8 x *Cl. novyi* u.a.) in der Mehrzahl der Proben gefunden. In allen Proben waren Enterobacteriaceae, Bazillen und Mikrokokken nachzuweisen. Daß in Geflügelstreu häufig bedenkliche Clostridienanteile vorkommen können, geht auch aus einer Erhebung von KÜHLER et al. (1977) in der DDR hervor. Bei der Untersuchung von 39.913 verendeten Broilern (innerhalb von 3 Jahren angefallenes Sektionsmaterial) wurde bei 13 % der Tiere als Todesursache nekrotisierende Enteritis, verursacht durch im Darm nachgewiesene *Cl. perfringens*, festgestellt. Diese häufigen Clostridieninfektionen traten jedoch nur bei Bodenintensivhaltung auf. Die Mikroflora der Streu

von 4 Geflügelfarmen in Ohio (2 Junghennenaufzuchtbetriebe, 1 Lege- und Broilerbetrieb) untersuchten LOVETT et al. (1971). Die gefundenen aeroben/anaeroben Gesamtkeimzahlen variierten von 3.4×10^8 bis 1.7×10^{11} bzw. 6.3×10^7 bis 2.0×10^{10} pro Gramm Streu. Die coliformen Keime befanden sich im Bereich von 3.0×10^5 bis 1.6×10^8 /g. Pilze konnten in einer Größenordnung von 2.7×10^2 bis 6.7×10^6 /g nachgewiesen werden und zwar in größerer Menge und Vielfalt als im ebenfalls untersuchten Geflügelfutter. In Broilerstreu-Silage fanden CREGER et al. (1973) folgende Keimzahlen: Gesamtkeimzahl 1.65×10^8 /g, Pilze 4.7×10^2 /g; Salmonellen, Staphylokokken und coliforme Keime waren nicht nachzuweisen. Die dekontaminierende Wirkung der Silierung wurde auch von KLINGER und TAGARI (1976) bestätigt (Tab. 6).

4.1.3. Tenazität pathogener Keime in frischem Legehennenkot und bei verschiedenen Aufbereitungsverfahren

Zur Tenazität pathogener Keime in frischem Hühnerkot und bei verschiedenen Aufbereitungsverfahren gibt es zahlreiche Literaturangaben. So berichtete MÖLLER (1973) über selbstentseuchende Reaktionen in frischem Hühnerkot, für die enzymatische und an die Begleitflora gekoppelte antibiotische Vorgänge verantwortlich sind. Abhängig von Temperatur und Ausgangskeimgehalt betragen die Überlebenszeiten für verschiedene Salmonella-Spezies 6 - 26 Tage (STRAUCH und MÖLLER, 1968) bzw. 3 - 19 Tage (BERKOWITZ et al., 1974). Den in flüssiger Form anfallenden Misten (Güllen) fehlt das Selbstentseuchungsvermögen weitgehend (MÖLLER, 1973). Die relativ geringe Hitzeresistenz der Gattung der Enterobacteriaceae in Geflügelkot oder -streu (MESSER et al., 1971) kommt Aufbereitungsverfahren wie der thermischen Trocknung, Kompostierung und Silierung zustatten. PLATZ und MATTHES (1977) untersuchten das Verhalten verschiedener in Hühnerkot inokulierter Keime im Verlauf eines Kurz-Heiß-Rotteprozesses (Kompostierung). Als Testkeime wurden inokuliert: *S. typhimurium*, *S. pullorum*, *E. coli*, *Prot. vulgaris*, *List. monocytogenes*, *Ps. multocida*, β -hämolytische Streptokokken, β -hämolytische Staphylokokken und *Cl. perfringens*. Im Verlauf der Kompostierung erfolgte ein Temperaturanstieg auf max. 71°C . Bis auf *Cl. perfringens* wurden sämtliche Keime abgetötet. Auch andere Autoren berichteten von relativ kurzen Überlebens-

Mikrobiologischer Status von Geflügelstreu

Land	Quelle	Herkunft der Streu (Betriebe)	unters. Chargen	GKZ/g				Pilze/g		Anzahl der Proben mit					
				aerob	anaerob	min	max	min	max	Salm.	Cl.	Coli.	Baz.	Mc.	Cb. Mb.
Kanada	Alexander et al. (1968)	27x Broilermast 15x Legehennen 2x Putenmast	44								3 ⁰)	23	44	44	44 3 2
USA	Lovett et al. (1971)	Hennenaufzucht	4												
		Hennenaufzucht	12	3.4x10 ⁸	6.3x10 ⁷							12			
				1.7x10 ¹¹	2.0x10 ¹⁰										
		Legehennen	6	9.7x10 ⁷											
USA	Creger et al. (1973)	Broilermast	4	4.4x10 ⁸	2.3x10 ⁷								4		
				8.5x10 ⁸	4.3x10 ⁸										
		Broilermast	1 ^x)	1.65x10 ⁸							neg.	neg.	neg.	neg.	neg. (Staph.)

x¹) Broilerstreu-Silage o¹) 1x Broilerstreu, 1x Legehennenstreu und 1x Putenstreu

GKZ = Gesamteinzahl Baz. = Bazillen Staph. = Staphylokokken

Salm. = Salmonellen Mc. = Mikrokokken

Cl. = Clostridien Cb. = Corynebakterien

Coli. = Coliforme Mb. = Mykobakterien

zeiten vegetativer, pathogener Keime bei rottetchnologischen Verfahren (BANSE et al., 1967; FARKASDI et al., 1971; STRAUCH und SCHWAB, 1974; MIRSCH, 1975).

Ähnliche Ergebnisse wurden durch Silierung von Hühnerkot (+Zusatzstoff) oder Geflügelstreu erzielt. Bei Salmonellenfreiheit kann jedoch der Gehalt an Clostridien mitunter sogar leicht ansteigen (CREGER et al., 1973; McCASKEY und ANTHONY, 1975; KLINGER und TAGARI, 1976; TAGARI, 1978).

Die von CASWELL et al. (1972) erprobten chemischen Aufbereitungsverfahren für Broilerstreu (s. 1.1.) erwiesen sich als brauchbar zur Erlangung des geforderten Standards von weniger als 10 coliformen Keimen und einer Gesamtkeimzahl von weniger als 2×10^4 /g im Endprodukt. SMITH et al. (1979) setzten zu frischem Legehennenkot, in welchem Salmonellen nachgewiesen werden konnten, 0,5 % Essig-/Propionsäure zu. Die so behandelten Exkremeate waren frei von Salmonellen.

4.1.4. Die Übertragungsmöglichkeit pathogener Keime durch Geflügelkot

Bei dem relativ häufigen Vorkommen pathogener Keime in frischem Geflügelkot erhebt sich die Frage, in wie weit bei Verfütterung derart kontaminierter Chargen mit einer Infizierung bzw. Erkrankung der Masttiere zu rechnen ist. SMITH et al. (1978 a,b) verfütterten in 2 Versuchen mit 48 Kälbern und 90 Bullen frischen Legehennenkot, in dem regelmäßig Salmonellen nachgewiesen werden konnten. Die Masttiere zeigten keine Krankheitserscheinungen, jedoch wurden in 2 von 288 Kälberkotproben sowie in einer Kälber-Gallenblase Salmonellen gefunden. Es existiert somit ein potentiellcs Erregerübertragungsrisiko. Die Untersuchungen der Gallenblasen und Mesenteriallymphknoten der Bullen auf Salmonellen verliefen negativ.

4.1.5. Keimgehalt in getrocknetem Legehennenkot

Der Keimgehalt in getrocknetem Legehennenkot ist abhängig von der angewendeten Trocknungstemperatur und dem verbleibenden Feuchtegehalt. CHANG et al. (1974) untersuchten 19 Trockenkot-Chargen von verschiedenen Orten in den USA mit unterschiedlichen industriellen Trocknungsverfahren. Die Proben des Mikrowellen-Trockners und eines Trockners mit eingebauter Sterilisationseinheit waren keimfrei. Die restlichen Proben wiesen eine Gesamtkeimzahl von 5.9×10^3 bis 3.6×10^6 pro Gramm auf mit einem Mittelwert von 4.6×10^5 . Die am häufigsten isolierten Keimgruppen waren

Bazillen und Streptokokken. HACKING et al. (1977) untersuchten in England den mikrobiellen Status von Legehennentrockenkot, produziert in einem kommerziellen Ölfeuerungstrockner mit Eingangstemperaturen von 455°C , die sich auf 300°C reduzierten. Der Feuchtegehalt des Endproduktes betrug ca. 13 %, die Gesamtkeimzahlen lagen bei den 34 untersuchten Chargen zwischen 9×10^3 und 1.3×10^7 pro Gramm. Salmonellen wurden in keiner der Proben, coliforme Keime in 26 % der Proben und anaerobe Sporenbildner in 76 % der Proben gefunden. Der mittlere aerobe bzw. anaerobe Gesamtkeimgehalt von 15 Legehennentrockenkot-Chargen aus einer industriellen Trommeltrocknungsanlage (Eingangstemperaturen 600 bis 400°C) in der Bundesrepublik betrug 6.42 bzw. 5.58 ($\log n$) pro Gramm. Bei den vegetativen Bakterien war es zu einer erheblichen Keimzahlreduzierung gekommen. Nur die Mikrokokken und die Pseudomonaden erwiesen sich als abgestuft hitzeresistent. Der Keimgehalt wurde im wesentlichen von den Bazillen bestimmt (REUTER et al., 1981) Tab. 7.

4.2. Einflüsse auf die Mikroflora des Pansens beim Rind durch die Verfütterung von Legehennentrockenkot

Die Pansenflora der Wiederkäuer wird durch Zusammensetzung und Struktur der Futterration beeinflusst (KOLB, 1980). Beispielhaft sei eine der vielen Arbeiten über die Pansenmikroökologie angeführt. MIURA et al. (1980) zeigten die Abhängigkeit der 3 repräsentativen Pansenbakterien *Bacteroides amylophilus*, *Megasphaera elsdenii* und *Ruminococcus albus* vom vorhandenen Nährstoffangebot und voneinander. An Stärke reiche Rationen bewirken danach vermehrtes Wachstum von *B. amylophilus*, der wiederum essentielle Wachstumsfaktoren für *M. elsdenii* liefert. Letzterer produziert verzweigte Fettsäuren, die für das Wachstum von *R. albus* notwendig sind.

4.2.1. Mögliche Beeinflussung der Magen- Darmflora durch antagonistische Wirkungen oral zugeführter Mikroorganismen

Zahlreiche Spezies der dominierenden Keimgruppen, sowohl von Maissilage (Laktobazillen) als auch von Legehennentrockenkot (Bazillen) besitzen die Fähigkeit, durch Bildung von Metaboliten bzw. antibiotischen Stoffen (Bacteriocinen?) Einflüsse auf die sie umgebende Keimflora auszuüben.

Mikrobiologischer Status von Legehennentrockenkot

Land	Autor	Jahr	Trocknungstechnik	unters. Chargen	GKZ aerob/g	hauptsächlichste Keimfloraanteile Salmonellen
USA	Chang et al.	1974	x)	1	5.9×10^3	Aerobacter, Bacillus, Escherichia Pseudomonas, Staphylococcus
				1	3.6×10^5	Bacillus, Streptococcus
				1	7.6×10^5	Bacillus, Streptococcus
				1	5.8×10^5	Bacillus, Alcaligenes, Citrobacter, Escherichia, Lactobacterium, Staphylococcus, Streptococcus
				1	8.3×10^4	Bacillus, Staphylococcus, Strepto- coccus
				1	3.6×10^6	Escherichia, Aerobacter
				1	9.9×10^4	Bacillus, Alcaligenes, Sarcina
				1	1.2×10^5	Bacillus, Staphylococcus
U.K.	Hacking et al.	1977	Ölfeuerungs- trockner, 455-300 °C +)	18	1.1×10^6	qualitativer Nachweis: anaerobe Sporenbildner (76 % d. Pr.) Coliforme (26 % der Proben)
D	Reuter et al.	1981	Trommel-trockner 600-400 °C +)	15	2.6×10^6	Bazillen, (Mikrokokken, Pseudomonaden)-

GKZ = Gesamtkeimzahl

x) Die Angaben dieses Autors beziehen sich auf Legehennentrockenkot-Chargen unterschiedlichen Ursprungs, die in verschiedenen industriellen Trocknungsanlagen innerhalb der USA produziert wurden

+) Anfangstemperatur

REUTER (1972) überprüfte die antagonistische Wirkung von Laktobazillen-Stämmen auf eine Reihe von Mikroorganismen der Lebensmittelflora. MARX (1972) untersuchte antagonistische und synergistische Wechselwirkungen zwischen Enterobacteriaceae, Pseudomonaden, Staphylokokken, Enterokokken, Bazillen und Clostridien. Dabei zeigte sich z. B. eine Hemmung von *Cl. perfringens* durch Bazillen.

Die Bazillenstämme *B. stearrowthermophilus*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis* und *B. licheniformis* sind als Bacteriocin-Produzenten beschrieben worden (SHAFIA, 1966; BRADLEY, 1967; REEVES, 1972). DE BARJAC und LAJUDIE (1974) berichteten von bacteriocinartigen Substanzen, gebildet von *B. thuringiensis*, durch welche eine große Zahl anderer Bazillen-Spezies sowie *St. aureus* gehemmt wurden. Auch Antibiotika-produzierende Bazillenstämme wurden wiederholt gefunden (JOHNSON et al., 1945; AINS-WORTH et al., 1947; FULLER, 1955; RONCARI et al., 1966; PERLMAN und BODANSZKY, 1971; IGLEWSKI und GERHARDT, 1978). Der Einsatz eines Futtermittels, wie getrockneter Legehennenkot, in welchem selektierte Bazillenstämme als fast ausschließliche Keimflora in relativ großer Menge vorkommen, könnte durchaus zu Verschiebungen der Keimfloraanteile im Magen-Darmtrakt führen.

4.2.2. Konzentrationsänderungen mikrobieller Stoffwechselprodukte (flüchtige Fettsäuren) im Pansen

Die Gesamtkonzentration flüchtiger Fettsäuren im Pansen liegt in der Regel im Bereich von 60 - 120 mmol/l und ist in erster Linie von der Fütterung abhängig. Auch die einzelnen Fettsäure-Anteile werden hauptsächlich von der Zusammensetzung und der physikalischen Struktur der Ration sowie individuellen Besonderheiten beeinflusst. Bei hohen Anteilen von NPN-Verbindungen im Futter vermindert sich die Konzentration an verzweigten Fettsäuren sowie an Butter- und Essigsäure (KOLB, 1980).

CULLISON et al. (1976) stellten im Pansensaft von mit Legehennentrockenkot gefütterten Bullen im Vergleich zu Kontrolltieren signifikant niedrigere Werte für die Gesamtkonzentration flüchtiger Fettsäuren fest (77.6 mmol/l zu 100.6 mmol/l). Der Gehalt der verzweigten Fettsäuren Isobutter- und Isovaleriansäure war bei den mit Trockenkot gefütterten Tieren zwar geringer, der Unterschied jedoch nicht signifikant. FLACHOWSKY et al. (1977) verglichen die Anteile der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion-

und Buttersäure im Pansensaft von Mastbullen, deren Rationen Feststoffe von Schweinegülle oder einen hohen Rohfaser- oder Kraftfutteranteil enthielten. Die molaren Essig- und Propionsäureanteile nach Einsatz der Schweinegülle-Feststoffe lagen zwischen den Werten, die bei den Tieren mit rohfaserreicher (Essigsäure erhöht, Propionsäure erniedrigt) bzw. kohlenhydratreicher (Essigsäure erniedrigt, Propionsäure erhöht) Ration ermittelt wurden.

5. Auswirkung der Verfütterung von Geflügelkot an Mastrinder auf die substantielle Beschaffenheit der Schlachttierkörper

5.1. Physikalisch-chemische Parameter zur Fleischqualität

5.1.1. pH-Wert, Wasserbindungsvermögen, Kochverlust

FELKL und ZIMMERHACKEL (1972) sowie GILKA et al. (1981 a) stellten keine Beeinflussung des pH-Wertes der Muskulatur (M. longissimus dorsi, Diaphragma) durch die Verfütterung von Geflügelexkrementen fest. Auch bei dem aus der Muskulatur auspreßbaren Wasser fanden die letztgenannten Autoren keine Abweichungen von den Kontrolltieren. Ebenso traten keine Unterschiede bei den Kochverlusten auf, wie CULLISON et al. (1976) bei einem Fütterungsversuch mit Legehennentrockenkot und SMITH et al. (1978 b) bei einem Versuch mit frischem Legehennenkot ermittelten.

5.1.2. Rohnährstoffgehalte der Muskulatur

Vergleichende Untersuchungen des Wasser-, Protein-, Fett- und Aschegehaltes der Muskulatur ergaben für die mit getrocknetem Hühnerkot gemästeten Bullen im Vergleich zur Kontrollgruppe einen um 16 % höheren Eiweißanteil und einen um ein Drittel geringeren Fettanteil der Muskulatur. Der Aschegehalt war gleich (FELKL et al., 1974). Auch GRABOVENSKIJ und KALACHNJUK (1980) konnten bei mit Geflügelkot gefütterten Bullen einen geringgradig erhöhten Trockenmassegehalt (anstelle von Fett) der Muskulatur feststellen. Dagegen fanden GILKA et al. (1981 a) bei der chemischen Analyse des M. longissimus dorsi sowie des Diaphragmas bei Versuchs- und Kontrollgruppe praktisch identische Werte.

5.2. Sensorische Parameter

5.2.1. Geruch, Geschmack, Zartheit, Saftigkeit und Marmorierung

Zahlreiche Untersucher befaßten sich mit der organoleptischen Beschaffenheit des Fleisches von mit getrocknetem Hühnerkot gefütterten Bullen. Dabei wurden im allgemeinen bei den Kriterien Geruch, Geschmack, Zartheit und Saftigkeit keine Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren festgestellt (EL-SABBAN et al., 1970; CULLISON et al., 1976; DE BOER, 1980). Dieser Sachverhalt wurde durch Untersuchungen von SMITH et al. (1978 b) und SMITH et al. (1979) bestätigt, die frischen bzw. säurebehandelten Legehennenkot an Mastbullen verfüttert hatten. Auch der Marmorierungsgrad der Muskulatur scheint nicht beeinflusst zu werden (BUCHOLTZ et al., 1971; CULLISON et al., 1976). Dagegen fanden CREGER et al. (1973) beim sensorischen Vergleich von mit Broilerstreu-Silage gefütterten Mastrindern und Kontrolltieren kleine, aber signifikante ($\alpha = 0.01$) Unterschiede. Ein 50-Personen Test-Panel hatte bei den 3 geprüften Kriterien Saftigkeit, Geschmack und Zartheit den Kontrolltier-Proben den Vorzug gegeben. DE BOER (1980) berichtete über die organoleptischen Befunde bei 6 Fütterungsversuchen mit getrocknetem Legehennenkot. Dabei konnte bei einem Mastversuch beim Kriterium Geschmack eine Tendenz zugunsten der mit den Trockenexkrementen gefütterten Tiere festgestellt werden. Bei den restlichen Versuchen ergaben sich keine Unterschiede.

5.2.2. Chemische Zusammensetzung des Muskeleiweißes und des intramuskulären Fettgewebes

Der Myoglobingehalt der Muskulatur, das Aminosäuren-Muster des Muskeleiweißes sowie die Zusammensetzung des intramuskulär eingelagerten Fettes, das für die sensorische Qualität des Fleisches von Bedeutung ist, wurden verschiedentlich untersucht.

DOBICKI et al. (1979) fanden bei Jungbullen, gemästet mit getrocknetem Hühnerkot, einen erhöhten Gehalt an Myoglobin und Gesamtpigmenten in der Muskulatur. Dagegen unterschieden sich nach GILKA et al. (1981 a) die Myoglobingehalte im M. longissimus dorsi sowie im Diaphragma von mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefütterten Bullen nicht signifikant von den Kontrolltier-Gehalten.

GRABOVENSKIJ und KALACHNJUK (1980) untersuchten u.a. die Aminosäuren-Zusammensetzung der Muskulatur von mit Geflügelkot gefütterten Jungbullen. Dabei stellten sie eine Tendenz zur Erhöhung des Lysin-, Alanin- und Tyrosingehaltes fest. Dagegen waren die Gehalte an Tyrosin, Hydroxyprolin, Tryptophan und Elastin im M. longissimus dorsi von mit Schweine- und Geflügelkot gefütterten Bullen und Kontrolltieren nicht signifikant verschieden (GILKA et al., 1981 a).

Dieselben Autoren analysierten die Fettsäuren-Zusammensetzung des intramuskulären Fettgewebes von M. longissimus dorsi und Diaphragma. Bei den untersuchten gesättigten Fettsäuren C 10 bis C 20 (Caprin- bis Arachinsäure) sowie bei den untersuchten ungesättigten Fettsäuren konnten zwischen Versuchs- und Kontrolltieren im allgemeinen keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. Jedoch unterschieden sich die Gehalte an Myristin-, Palmitin- und Linolsäure im Zwerchfell bei beiden Gruppen signifikant ($\alpha = 0.05$).

6. Erkrankungen von Mastrindern durch Verfütterung von Geflügelkot

Der Einsatz von Geflügelkot in der Rindermast hatte nach Aussagen der Mehrzahl der Untersucher keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit der Masttiere. Vereinzelt wurde jedoch von Infektionen (Clostridien), Intoxikationen und chronischen Organveränderungen berichtet.

6.1. Infektionen bzw. mikrobielle Intoxikationen

Zwei Ausbrüche von Botulismus an insgesamt über 1000 Rindern im Jahre 1977 in Israel konnten beide Male auf die Verfütterung einer speziellen Kraftfuttercharge mit 10 % Hühnertrockenkot-Zusatz zurückgeführt werden. Nachforschungen ergaben, daß das vorgeschriebene Verfahren für die Trocknung des Legehennenkotes nicht korrekt eingehalten worden war, vielmehr war der Kot z.T. in der Sonne getrocknet, d.h. nur unzureichend erhitzt worden. Auch der Zusatz von Schwefelsäure hatte sich als nicht sicher genug erwiesen (EGYED et al., 1978 a, b; SAVIR, 1978; COHEN und TAMARIN, 1978). Aus Holland wurde von einem Rindersterben auf der Weide berichtet. 7 Rinder waren nach Aufnahme von Geflügelmist an Botulismus erkrankt. Das Botulinum-Toxin Typ D konnte in Blut und Fäces von 3 Tieren sowie im Geflügelmist nachgewiesen werden. Der Mist stammte aus einem Mastbetrieb, in welchem die Broiler keinerlei auffälliges Verhalten gezeigt hatten (N.N., 1981).

6.2. Chemische Intoxikationen

FONTENOT et al. (1971b) beobachteten einen Fall von Kupfervergiftung bei Schafen, die mit Broilerstreu gefüttert worden waren, die einen hohen Kupfergehalt aufwies. An die Küken war Kupfersulfat (bakterizide Wirkung der Cu-Ionen) verabreicht worden.

GRIEL et al. (1969) berichteten von einer hohen Abortrate bei Kühen, gefüttert mit Geflügelstreu. Die Streu enthielt östrogenähnlich-wirksame Substanzen.

6.3. Chronische Organschädigungen

Eine Beziehung zwischen Geflügelkotfütterung und makroskopisch-pathologischen Organveränderungen scheint nicht zu bestehen. So fanden CULLISON et al. (1976) keinen Zusammenhang zwischen gehäuft auftretenden Leberabszessen und Broilerstreu- bzw. Legehennentrockenkot-Fütterung. Auch TIESENHAUSEN et al. (1978) konnten bei mit Geflügelkot gemästeten Bullen keine Veränderungen an Herz, Leber und Lunge im Rahmen der Fleischschau feststellen.

Zur Erkennung ernährungsbedingter Lebererkrankungen oder Myopathien beim Rind eignen sich Enzymaktivitätsbestimmungen im Blut (BOSTEDT, 1982). GRABOVENSKIJ und KALACHJUK (1980) fanden bei Jungbullen, gemästet mit Geflügelkot, die Aktivität der Alanin-Aminotransferase (GPT) signifikant erhöht. GILKA et al. (1981 a) führten Enzymaktivitätsbestimmungen für GOT, GPT und alkalische Phosphatase bei mit Schweine- und Geflügelkot gefütterten Bullen sowie bei Kontrolltieren durch. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

C.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Versuchsansatz

Tiermaterial:

Es wurden zwei Fütterungsversuche mit insgesamt 45 schwarzbunten Jungbullen in der Zeit vom 29.1.1980 bis 11.5.1981 (Fütterungsversuch A) und 17.12.1981 bis 30.6.1982 (Fütterungsversuch B) im Versuchsgut Marienfelde des Bundesgesundheitsamtes Berlin durchgeführt.

Bei Fütterungsversuch A standen als Ausgangstiermaterial 30 schwarz-bunte Jungbullen aus dem norddeutschen Raum in der Gewichtsklasse 200 - 230 kg zur Verfügung. Die Tiere wurden in drei Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt. Gruppe I diente als Kontrollgruppe, in der als Eiweißträger Sojaextraktionsschrot verfüttert wurde; Gruppe II erhielt von Versuchsbeginn an anstelle des Sojaextraktionsschrotes eine isonitrogene Menge Legehennentrockenkot. Gruppe III erhielt Legehennentrockenkot erst ab 350 kg Mastgewicht. Der Legehennentrockenkot wurde in granulierter Form, so wie er aus der Kottrocknungsanlage anfiel, verfüttert. Die Aufstallung erfolgte in Einzelanbindung mittels Grabnerketten. Jedes Tier hatte einen separat abgeteilten Futtertrog. Die Bullen kamen mit einem Lebendgewicht von durchschnittlich 556 kg (513 bis 590 kg) zur Schlachtung.

Für Fütterungsversuch B standen als Tiermaterial 15 schwarzbunte Jungbullen der Gewichtsklasse 243 bis 330 kg zur Verfügung. 10 Tiere (Gruppe IV) wurden ab ca. 300 kg Lebendgewicht mit Legehennentrockenkot-Zusatz gemästet, die restlichen 5 (Gruppe V) dienten als Kontrolle. Die Rationsgestaltung entsprach der von Fütterungsversuch A, es handelte sich lediglich um andere Chargen an Trockenkot und Maissilage. Die Bullen kamen mit einem Mastgewicht von durchschnittlich 489 kg (460 bis 545 kg) zur Schlachtung (Tab.8).

Tab. 8 :

Durchführung der 2 Rindermastversuche
(Schwarzbunte Jungbullen)

Versuch	Gruppe		Soja- Extr.Schr.	Futterkomponenten			Schlachtgew. lebend kg
	Gewicht (kg)	n		Min.-F. vitam.	Trocken- kot	Vit. u. Spur.Vmschg.	
A 1980/81 29.1./ 11.5	I	(Ko) 10	+	+			$\bar{x}_a = 555.5$ $x_{\min} = 513$ $x_{\max} = 590$
	II	200- 230 10			+	+	
	III	10	$\xrightarrow{+ \quad +}$ bis 350 kg KG		$\xrightarrow{+ \quad +}$ ab		
B 1981/82 17.12/ 30.6	IV	10	$\xrightarrow{+ \quad +}$ bis 300 kg KG		$\xrightarrow{+ \quad +}$ ab		$\bar{x}_a = 489$ $x_{\min} = 460$ $x_{\max} = 545$
	V	(Ko) 5	+	+			

Maissilage und Gerste an alle Gruppen in gleichen Teilen

Soja-Extr.Schr. = Sojaextraktionsschrot

Min.-F.vitam. = Mineralfutter, vitaminisiert

Vit. u. Spur.Vmschg. = Vitamin und Spurenelementvormischung

2. Material und Methodik

2.1. Mikrobiologische Untersuchungen

2.1.1. Probenmaterial: Proben aus den verfütterten Legehennentrockenkot- und Maissilage-Chargen sowie aus verschiedenen Magen- Darmabschnitten der Mastrinder

Getrockneter Legehennenkot:

Der Legehennentrockenkot stammte aus einem großen Legehennenbetrieb in der Bundesrepublik. Die Produktion erfolgte in industriellem Maßstab in einer Trommeltrocknungsanlage, die im Anfangsteil Temperaturen von 600 bis 400°C aufwies. Aus den verfütterten Chargen (Mastversuch A: 3 Chargen, Mastversuch B: 1 Charge) wurden jeweils zu Beginn und zum Teil gegen Ende der Verfütterung Proben gezogen.

Maissilage:

Aus der bei Mastversuch A und B verfütterten Maissilage wurden zu Beginn und bei Fütterungsversuch B auch gegen Mastende Proben entnommen.

Panseninhalt:

Panseninhalt wurde bei beiden Fütterungsversuchen unmittelbar nach Ausweiden der Tiere entnommen. Des weiteren wurden im Verlauf des Fütterungsversuches B in vierzehntägigem Abstand Pansensaftproben mittels Schlundsonde ein bis eineinhalb Stunden nach der Fütterung gewonnen. Aus arbeitstechnischen Gründen konnten jeweils nur von einem Teil der Tiere Proben entnommen werden.

Darminhalte:

Bei Fütterungsversuch A wurde unmittelbar nach dem Ausweiden Material aus Jejunum, Caecum und Colon, bei Fütterungsversuch B lediglich Coloninhalt entnommen.

Der Transport sämtlicher Proben erfolgte in sterilen Gefäßen. Die mikrobiologische Untersuchung wurde ein bis zwei Stunden nach Probenahme durchgeführt.

2.1.2. Erfassung der wesentlichen Keimgruppen

Bei Fütterungsversuch A wurden folgende Keimgruppen mittels Selektivmedien quantitativ bestimmt:

Gesamtkeimzahl aerob und anaerob, Enterobacteriaceae, Pseudomonaden, Mikrokokken, fäkale Streptokokken, Bazillen, Laktobazillen, Salmonellen sowie sulfitreduzierende anaerob wachsende grampositive Stäbchen (Clostridien).

Die Keimdifferenzierung wurde bei Fütterungsversuch B auf die Gesamtkeimzahl aerob und anaerob, Bazillen aerob und anaerob und sulfitreduzierende, anaerob wachsende grampositive Stäbchen (Clostridien) beschränkt.

Dazu wurden je 5 g Probenmaterial mit 45ml NaCl-Pepton (physiologische Kochsalzlsg. + 0,1% Pepton) homogenisiert, Verdünnungsreihen bis 10^{-6} hergestellt und nach dem Drop-plating-Verfahren je 0,1ml auf folgende Selektivmedien aufgebracht:

Gesamtkeimzahl aerob: Lebensmittelkeimzahlagar (Merck Nr.10231),

LL: Lackmus-Laktose-Agar (Merck 5316)

Gesamtkeimzahl anaerob:

RCM: Reinforced Clostridial Agar (Oxoid Nr. CM 151) + 5% Blut

Enterobacteriaceae:

VL: Violet-red-bile-lactose-agar (Merck Nr. 1406)

VG: Violet-red-bile-dextrose-agar (Merck Nr. 10275)

Pseudomonaden:

A: Standard I-Nähragar (Merck Nr. 7881), nach 48h Bebrüten bei 30°C überschichten mit stabilisiertem Kovacz-Reagenz: Titriplex III (Merck Nr. 8418) 0,1%, Na-thiosulfat 0,05%, Tetramethyl-p-phenylen-diamindihydrochlorid (Merck Nr. 821102) 0,2%, Aqua dest. ad 100

Mikrokokken:

Kranep-Agar (Kaliumrhodanid-Actidion-Natriumazid-Eigelb-Pyruvat-Agar)

Basis: Merck Nr. 5395

Enterokokken (fäkale Streptokokken):

CATC-Agar (Citrat-Azid-Tween-Carbonat-Agar) Basis: Merck Nr. 10972

Laktobazillen:

Sorbinsäure-Agar pH 5 (Basis Merck Nr. 10451)

Sulfitreduzierende, anaerob wachsende, grampos. Stäbchen:

TSN-Agar (Perfringens-Selektivagar nach Marshall), Merck Nr. 5264

a) TSN- Röhrchen: 9 ml TSN + 1 ml Homogenisat (1:10 und 1:100 Verdünnung)

b) TSN- Gußplatten nach NOTERMANS et al.(1981) : 13,5 ml TSN + 1,5 ml Homogenisat (1:10 und 1:100 Verdünnung)

Die Gußplattentechnik wurde nur bei Fütterungsversuch B eingesetzt.
SAT-Nährboden (Clostridien-Selektivnährboden nach Levetzow) Basis:
Merck Nr. 5261

Leberbrühe: (Oxoid Nr. CM 78)

Die Leberbrühen (je 10 ml) wurden 15 Minuten auf Siedetemperatur erhitzt, schockartig abgekühlt und anschließend parallel kalt, bei 80°C und bei 100°C mit Probenmaterial bestückt. Luftabschluß erfolgte durch Überschichtung mit einem Paraffin (fest-flüssig)- Gemisch.

SAT-Nährboden und Leberbrühen fanden nur bei Fütterungsversuch A Anwendung.

Salmonellen:

Voranreicherung in Tetrathionat (TT)- Bouillon nach Müller-Kauffmann (Oxoid Nr. CM 343)

Das Bebrüten erfolgte 18-24h bei 43°C, anschließend wurde die Voranreicherung auf folgende Selektivplatten ausgespatelt:

a) Lackmus-Laktose Kristallviolett-Agar (Merck Nr. 5266)

b) Brillantgrün-Phenolrot-Agar (Oxoid Nr. 329)

Bebrütung 24h bei 37°C. Verdächtige Kolonien wurden mit polyvalenten Salmonella-Testseren (Behringwerke AG, Marburg) geprüft. Falls nicht anders vermerkt, wurden sämtliche beimpfte Platten 24h bei 37°C bebrütet und anschließend 24h bei Raumtemperatur gehalten.

2.1.3. Vergleichende Erfassung von Bazillenstämmen aus Legehennentrockenkot, Maissilage und Magen- Darminhalt der Mastrinder

Da sich zeigte, daß fast ausschließlich aerobe Sporenbildner den Kottrocknungsprozeß überdauern, wurden, um den Einfluß dieser einseitig selektierten Futtermittel-Mikroflora auf die Magen- Darmflora der Masttiere zu prüfen, Bazillenstämmen aus den verwendeten Futtermitteln und aus den Pansen- und Darminhalten der Masttiere isoliert.

2.1.3.1. Morphologische Merkmale:

Von Lebensmittelkeimzahlagar-Platten und RCM-Platten, die zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl dienten, wurden morphologisch unterschiedliche Kolonien, die sich bei der mikroskopischen Untersuchung (Gramfärbung) als aerobe Sporenbildner identifizieren ließen, parallel auf RCM-, Lebensmittelkeimzahl-, LL- und Agar-Platten überimpft und

aerob und anaerob (letzteres nur RCM- und Lebensmittelkeimzahlagar-Platten) 24 bzw. 48h bebrütet. Die Isolate einer Probe, die beim Vergleich der einzelnen Plattensätze unterschiedliche morphologische Merkmale aufwiesen, wurden auf Schrägagar (Standard II-Nähragar, Merck Nr. 7883 + 5 g Fleischextrakt) gesammelt. Auf diese Weise wurden insgesamt 243 Bazillenisolat gewonnen und zur weiteren Differenzierung aufbewahrt.

2.1.3.2. Biochemische Merkmale

Zur näheren Charakterisierung wurden morphologische und biochemische Merkmale sowie unterschiedliche Wachstumsbedingungen herangezogen, wie von REUTER (1973), COWAN und STEEL (1974) und MITRUKA (1976) beschrieben. Im einzelnen wurden folgende Reaktionen und Kriterien überprüft:

Die Koloniemorphologie, aerob und anaerob sowie auf verschiedenen Nährmedien (RCM-, Lebensmittelkeimzahl-, LL- und Nähragar), Hämolyse auf RCM-Blut-Agar, Lecithinase- und Lipase-Reaktionen auf Eigelb-Agar (Nähragar + 5% Eigelb-Emulsion), Wachstum in Glucose-Bouillon, aerob, anaerob und bei 56⁰C sowie Produktion antibiotischer Substanzen (s.2.1.3.3.).

2.1.3.3. Nachweis von bacteriocinähnlichen Substanzen im Agardiffusions-Lochtest:

Getestet wurden bei Mastversuch A 5 Stämme, isoliert aus Trockenkot sowie Magen- Darminhalt, 5 Stämme, isoliert aus Silage sowie Magen- Darminhalt und 21 Stämme, die nur im Magen- Darminhalt der Bullen gefunden worden waren. Bei Fütterungsversuch B wurden 4 Stämme, isoliert aus der verfütterten Trockenkotcharge sowie Pansensaft, 5 Stämme aus Silage sowie Pansensaft und 13 Stämme, isoliert nur aus Pansensaft, auf Hemmaktivität gegenüber *B. subtilis* BGA überprüft (Tab.9). Die Herstellung der bakterienfreien Kulturfiltrate erfolgte modifiziert nach IGLEWSKI und GERHARDT (1978): Je ein PFHG-Röhrchen (Pepton-Fleischextrakt Hefeextrakt Glukose) wurde mit einem isolierten und kulturell abgegrenzten Stamm beimpft und 24 Stunden bei 37⁰C aerob bebrütet. Aus dieser Keimsuspension wurden 0.1 ml auf einer PFHG-Platte ausgespatelt und diese 48 Stunden bei 37⁰ C anaerob ("Gas-Pak") bebrütet. Damit sollte der Anaerobiose des Pansens Rechnung getragen werden. Die bebrüteten Platten wurden mit je 10 ml physiologischer Kochsalzlösung überschichtet und

bei 5° C 24 Stunden inkubiert. Anschließend wurden die Überstände dekantiert, der pH-Wert gemessen und steril filtriert. Von den Filtraten wurden jeweils 0.05 ml auf Hemmstoffplatten nach AB.A in mit Hilfe eines Korkbohrers ($\varnothing$ 8 mm) ausgestanzte Löcher pipettiert. Die Hemmstoffplatten wurden 18 - 24 Stunden bei 30° C bebrütet.

Tab. 9

Bazillenstämme, die auf Bildung bacteriocinähnlicher Substanzen überprüft wurden

Mast-versuch	Herkunft	Anzahl Bazillenisolat
A	Trockenkot/Intestinaltrakt	5
	Maissilage/Intestinaltrakt	5
	Intestinaltrakt	21
B	Trockenkot/Pansensaft	4
	Maissilage/Pansensaft	5
	Pansensaft	13

2.1.3.4. Überprüfung der bacteriocinähnlichen Substanzen mit physikalisch-chemischen Methoden

Als Untersuchungsmaterial dienen die Bazillenisolat-Abschwemmungen des Fütterungsversuches A, die beim Hemmstofftest Hemmhöfe ≥ 2 mm gezeigt hatten. Die Prüfung einiger physiochemischer Eigenschaften dieser hemmaktiven Substanzen erfolgte in Anlehnung an TAGG et al. (1976). Geprüft wurden Temperaturstabilität, pH-Stabilität und Diffusionsvermögen durch eine semipermeable Membran.

Zur Prüfung der Temperaturstabilität wurde je 1 ml eines Filtrates 15 min lang einer Temperatur von 40, 60, 80, 100° C (Wasserbäder) sowie 121° C (Autoklav) ausgesetzt.

Zur Prüfung der pH-Stabilität wurden je Bazillenfiltrat 10 Fraktionen zu 0,5 ml gebildet und mit HCl bzw. NaOH auf die pH-Werte 2,3,4,5,6, 8,9,10,11 und 12 eingestellt. Die eingestellten Lösungen wurden 24h bei

5⁰ C inkubiert und anschließend neutralisiert. Die Prüfung der so behandelten Filtrate auf Hemmwirkung erfolgte im Agardiffusions-Lochtest, wie oben angeführt.

Zur Prüfung des Diffusionsvermögens wurde eine semipermeable Membran (Dialyseschlauch) senkrecht im Durchmesser einer Petrischale mit Hilfe eines sterilen Glasstabes fixiert und das Agar-Testkeimgemisch beidseitig der Membran eingegossen, wobei der erkaltete Agar die Membran stabilisierte. Daraufhin wurden unmittelbar neben die Membran pro Platte 2 Löcher ($\varnothing$ 8 mm) gestanzt, in welche die zu prüfenden Filtrate pipettiert wurden. Hemmhöfe beidseitig der Membran wären durch erfolgte Diffusion von hemmaktiven Substanzen verursacht, andernfalls müßten halbkreisförmige Hemmhöfe auftreten. Hiermit war eine Zuordnung der hemmaktiven Substanzen zu niedermolekularen Verbindungen (z.B. Lactat) oder zur Gruppe der höhermolekularen Verbindungen (z.B. Proteine, Lysozym) möglich.

2.2. Untersuchungen auf Hemmstoffe

2.2.1. Probenmaterial und -aufbereitung

Legehennentrockenkot wurde als wäßrige Aufschwemmung sowie nach Extraktion mit den Lösungsmitteln Methanol-H₂O (1:1) und Acetonitril auf Hemmstoffe untersucht. Es wurden die 4 bei den beiden Mastversuchen verfütterten Chargen überprüft. Die Extrakte wurden folgendermaßen hergestellt: 5 g Trockenkot + 10 ml H₂O + 20 ml Acetonitril (oder + 30 ml Methanol 50%ig) homogenisieren (1 min Ultra Turrax, Fa. Jahnke und Kunkel, Staufen i. Breisgau), zentrifugieren (15 min, 4000 U/min), Überstand zur Trockene einengen (Rotationsverdampfer 40⁰ C), Rückstand in 2 ml Aqua dest. aufnehmen, erneut zentrifugieren und steril filtrieren (Millex Einweg-Filtereinheiten 0.22 μ m, Fa. Millipore, Neu-Isenburg).

Maissilage von beiden Mastversuchen wurde nativ und als Extrakt auf Hemmwirkung überprüft. Die Extraktion erfolgte mit Methanol 50%ig wie bei Trockenkot; der niedrige pH-Wert der fertigen Extrakte wurde mit einigen Tropfen 10%iger NaOH auf 6 bis 7 eingestellt.

Muskulatur (Vordergliedmaße), Niere, Leber sowie Muskulatur-, Nieren- und Leberextrakte der Mastbullen wurden auf Hemmstoffe untersucht. Die Herstellung der Extrakte erfolgte nach SIEWERT und SAGA (1979):

20 g organische Substanz + 75 ml Acetonitril homogenisieren (1 min, Ultra Turrax), zentrifugieren (10 min, 4000 U/min), Rückstand + 75 ml Acetonitril homogenisieren, zentrifugieren (10 min, 4000 U/min). Die vereinigten Überstände zur Trockene einengen (Rotationsverdampfer 40⁰ C), in 2 ml Aqua dest. lösen.

2.2.2. Hemmstofftest nach Anlage 4 AB.A zum FIBG

Die Zusammensetzung und Herstellung des Nährbodens sowie die Sporensuspension entsprachen der Anlage 4 zu § 20, Abs. 4 der Ausführungsbestimmung A zum Fleischbeschaugesetz. Die Oberfläche der angefrorenen Proben (Vorderextremitätenmuskulatur, Niere und Leber) wurden mit einem sterilen Skalpell entfernt. Mit einem sterilen Korkbohrer (ø 8 mm) wurde je ein Probestück herausgestantzt. Hiervon wurden 2 Scheiben von 2 mm Dicke abgeschnitten und mit einer sterilen Pinzette auf vorbereitete Nährböden von pH 6 und pH 8 verbracht. Die Bebrütungszeit betrug 18 - 24 Stunden bei 30⁰ C.

2.2.3. Agardiffusions-Lochtest mit flüssigen Extrakten und verschiedenen Testkeimen

Zusätzlich zu den Hemmstoffplatten nach Anlage 4 AB.A mit B. subtilis BGA wurden Platten mit den Testkeimen Mc. flavus ATCC 10240 und Mc. luteus ATCC 9341 verwendet. Zur Herstellung der Keimsuspensionen wurden je 5 ml Brain-heart-Bouillon (Oxoid CM 225) mit Mc. luteus bzw. Mc. flavus beimpft und 24 Stunden bei 37⁰ C bebrütet. Für jeden Tag, an dem Testplatten hergestellt wurden, war eine frische Suspension erforderlich. Als Nährboden diente "Antibiotic Medium 1" (Difco Nr. 0263-01) + 0.1 % KH₂PO₄, eingestellt auf pH 6.5 (SCHMIDT et al., 1974) und pH 8. Zur Herstellung der Testplatten wurden die jeweiligen Keimsuspensionen den verflüssigten und auf 48 - 50⁰ C abgekühlten Testnährböden zugegeben, so daß sich eine Konzentration von etwa 10⁴ Kolonien bildenden Keimen je ml ergab. Nach sorgfältiger Mischung wurden die Nährböden in eben stehende Petrischalen gegossen, so daß sich eine Agarschicht von 2 mm Dicke ergab. Nach mindestens einstündiger Lagerung der frisch gegossenen, abgekühlten Hemmstoffplatten im Kühlschrank wurden mit einem sterilen Korkbohrer (ø 8 mm) je 4 Löcher in die Platten gestantzt. Die Probenaufgabe

erfolgte, indem die Extrakte mit sterilen Pipetten in die Ausstanzungen pipettiert wurden (0.05 ml). Die Bebrütung der Mc. flavus- und Mc. luteus-Platten erfolgte 18 - 20 Stunden bei 37⁰ C. Bei der Auswertung wurden nur vollständig klare Hemmhöfe ohne Fremdkeimwachstum als positiv angesehen.

2.2.4. Identifizierungsversuche mit Dünnschichtchromatographie (DC) und Bioautographie

Zur Spezifizierung positiver Hemmstoffreaktionen bzw. zur Abgrenzung unspezifischer, d.h. nicht durch Antibiotika verursachter Hemmreaktionen wurden die Legehennentrockenkot-Extrakte sowie Muskelextrakte von 6 Versuchs- und 4 Kontrollbullen des Mastversuches A dünn-schichtchromatographisch mit den in Frage kommenden Legehennen-Futterzusatzstoffen Zinkbacitracin, Flavomycin sowie den gebräuchlichen Antibiotika Tetracyclin (TC), Oxytetracyclin (OTC) und Chlortetracyclin (CTC) verglichen.

Ausführung: Es wurden die Laufsysteme nach SIEWERT und SAGA (1979): DC-Fertigplatten Cellulose 0.1 mm (Merck Nr. 5716), Laufmittel Acetonitril (70), H₂O (25), Aceton (10), α -Dichlorhydrin (5.25), nach STAHL (1967): DC-Fertigplatten Kieselgel F 0.25 mm (Merck Nr. 5715), Laufmittel Butanol (57.2), Methanol 10 %ig (14.2), Citronensäure (28.6) und nach LANGNER und TEUFEL (1972): DC-Fertigplatten Cellulose (Merck Nr. 5716), Laufmittel n-Butanol (45), Methanol (30), Eisessig (9), Aqua dest. (36), eingesetzt. Der Ausschluß einer oder mehrerer Substanzen war manchmal bereits mit einem Laufsystem möglich. Die Probenaufgabe der Extrakte (10 - 50 μ l, je nach zu erwartender Größe des Substanzfleckes) erfolgte mit Eppendorf-Mikroliterpipetten. Nach durchgeführter Chromatographie mußten die Laufmittelreste von den Platten entfernt werden. (Lagerung ca. 1 Stunde unter dem Abzug). Bei Trockenkot-Extrakten wurde die DC zweidimensional durchgeführt. Die Platten wurden nach dem ersten Lauf um 90⁰ gedreht und ein zweiter Lauf, diesmal mit den entsprechenden Vergleichssubstanzen, schloß sich an. So sollten Verfälschungen der Rf-Werte durch störende Stoffe in den Extrakten vermieden werden.

Die Sichtbarmachung der Substanzflecke erfolgte bioautographisch durch Übersichten der entwickelten und getrockneten DC-Platten mit einem Testkeim-Nährbodengemisch und anschließendem Bebrüten (18 - 24 Stunden,

30° C). Dazu wurden die DC-Platten in einen zu diesem Zweck angefertigten Messingrahmen (steril) gelegt, mit 60 bis 70 ml ca. 50° C warmem Keim-Agargemisch vorsichtig überschichtet und sofort mit einem Messingdeckel, mit angefeuchtetem Filterpapier ausgekleidet, abgedeckt. Der Überschichtungsagar wurde folgendermaßen hergestellt: 0.6 ml *B. subtilis*-Sporensuspension auf 100 ml Standard II Nähragar (Merck Nr. 7883) pH 6; je 0.5 ml *Mc. luteus*- oder *Mc. flavus*-Suspension auf 100 ml "Antibiotic Medium 1" (Difco Nr. 0263-01) pH 6.5. Zur besseren Sichtbarmachung der Substanzflecke nach Bebrütung wurde bei Verwendung von *B. subtilis* BGA als Testkeim die Platte mit wenig wäßriger 0.5 %iger Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung (TTC) überschichtet; bei Verwendung von *Mc. flavus* wurde dem Überschichtungsagar anstelle von TTC-Lösung ca. 1 % Brillantschwarz-Lösung 0.2 %ig, zugegeben. Die Hemmzonen erschienen blau.

2.2.5. Modellversuch über die Stabilität von Zinkbacitracin

Es sollte durch experimentelle Zugabe von Zinkbacitracin (ZNB) zu frischem Legehennenkot und Simulierung physiologischer Vorgänge sowie der industriellen Kottrocknung die Verlustrate der biologischen Aktivität dieses zugelassenen Futtermittelantibiotikums ermittelt werden. Hierzu wurden Frischkot, autoklavierter Frischkot, Frischkot mit ZNB-Zusatz und autoklavierter Frischkot mit ZNB-Zusatz in zugelassener Konzentration sowie eine entsprechend konzentrierte wäßrige ZNB-Lösung einer parallelen Behandlung unterworfen. Autoklavierter Frischkot wurde verwendet, um Hemmwirkungen abgrenzen zu können, die möglicherweise nur durch Stoffwechselaktivitäten der Kotmikroflora verursacht wurden. Zunächst wurde 6 Stunden bei 40° C bebrütet (Verweildauer des Futterbreies bzw. Kotes im Verdauungstrakt), anschließend je die Hälfte des Kotes sofort extrahiert (Methanol - H₂O 1:1, Extraktion wie unter 2.2.1.), der Rest erst nach Trocknung (Trockenschrank 150° C, bis Kot Krümelstruktur aufwies). Die Extrakte wurden auf Hemmstoffplatten mit den Testkeimen *B. subtilis* BGA, *Mc. flavus* und *Mc. luteus* getestet (Ausführung wie unter 2.2.3.). Die Ermittlung der Wiederfindungsrate erfolgte nach der Methode von SIEWERT und SAGA (1979).

2.3. Untersuchungen zur substantiellen Beschaffenheit von Muskulatur und Organen der Mastrinder

2.3.1. Bestimmung der allgemeinen Fleischqualitätsparameter (pH-Wert, Rigor, Wasserbindungsvermögen) der Schlachttierkörper

Untersuchungsmaterial waren die Schlachttierkörper von Fütterungsversuch B. Als Meßstellen wurden die Mm. adductor, longissimus dorsi und semitendinosus ausgewählt.

Die pH-Messungen erfolgten mit einem Digital-pH-Meter (Fa. Knick Nr. 653) mit Einstichelektrode (Fa. Ingold Nr. 406-M6-KN) eine Stunde und 24 Stunden p.m. am Tierkörper sowie 48, 72 und 96 Stunden p.m. an einem ca. 2 kg schweren Teilstück des M. semitendinosus (bei + 4° C gelagert).

Der Rigor wurde eine Stunde und 24 Stunden p.m. mit einem speziell entwickelten Gerät (SYBESMA, 1966) gemessen.

Das Wasserbindungsvermögen wurde mit dem "Braunschweiger Gerät" (RÜMMELE et al., 1961) eine Stunde sowie 24, 48 und 72 Stunden p.m. bestimmt, wobei die Werte nach 48 und 72 Stunden wieder auf das Teilstück des M. semitendinosus beschränkt waren. Die Auswertung erfolgte durch Planimetrieren der gepreßten Fleisch- sowie Gesamtfläche und Bildung des Quotienten $Q = \frac{\text{Fleischfläche}}{\text{Gesamtfläche}}$. Alle Messungen wurden dreifach ausgeführt und die Werte gemittelt.

2.3.2. Bestimmung von Gesamtwassergehalt und intramuskulärem Fettgehalt der wertbestimmenden Teilstücke der Schlachttierkörper

Gesamtwassergehalt:

Als Untersuchungsmaterial dienten frische Proben (max. 2 Stunden p.m.) der Mm. adductor, longissimus dorsi und psoas major der Bullen von Fütterungsversuch A.

Die Bestimmung erfolgte gravimetrisch unter Zusatz von Seesand nach dem Standardverfahren TGL-24704, Bl.2. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen ausgeführt. Die Aluminiumwägeschale wurde vor Zugabe der Probe zusammen mit 10 g gewaschenem, geglühten Seesand und einem Glasstab gewogen. Darauf wurden ca. 10 g kleingeschnittenes, schieres Muskelfleisch eingewogen und mittels Glasstab innig mit dem Sand vermengt. Die Trocknung

erfolgte bei 105° C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz. Vor den Wägungen ließ man die Schale in einem Exsikkator auf Zimmertemperatur abkühlen.

Berechnung des Gesamtwassergehaltes (% der Frischsubstanz):

$$\frac{a - b}{a - c} \times 100$$

a = Wägeschale mit Sand und Glasstab und frischer Probe
b = Wägeschale mit Sand und Glasstab und getrockneter Probe
c = Wägeschale mit Sand und Glasstab

Intramuskulärer Fettgehalt:

Untersuchungsmaterial war die Trockensubstanz der Mm. adductor, longissimus dorsi und psoas major nach Gesamtwasserbestimmung.

Die Bestimmung wurde als Schnellanalyse mit dem Ultra-X-Fettextraktor Typ 210 (Fa. A. Gronert, 4937 Lage-Kachtenhausen) mit Parallelproben ausgeführt. Das Prinzip der Methode besteht in der Heißeextraktion der Muskelrockenmasse durch 1.1.1.-Trichloräthan und Zurückwiegen der fettfreien Trockenmasse. Die wasserfreien Muskelproben wurden mit Hilfe eines Pistills in feinkörnigen Zustand gebracht und quantitativ in die Glasfritten des Ultra-X-Gerätes überführt. Nach erfolgter Extraktion wurden vor der Wägung Lösungsmittelreste im Trockenschrank entfernt (15 min bei 110° C).

Berechnung des Fettgehaltes (% der Frischsubstanz):

$$\frac{a - b}{c} \times 100$$

a = Fritte und Muskelrockensubstanz
b = Fritte und Muskelrockensubstanz, extrahiert
c = Frischfleischeinwaage vor Trocknung

2.3.3. Sensorische Bewertung

Ziel der sensorischen Tests war es zum ersten, festzustellen, ob zwischen dem Fleisch von Versuchs- und Kontrolltieren überhaupt ein organoleptisch erfaßbarer Unterschied vorlag, ohne Berücksichtigung einer Wertung (Triangeltest). In einem zweiten Schritt sollten gefundene Unterschiede näher charakterisiert und gewichtet werden (bewertende Prüfung mit Skala).

2.3.3.1. Auswahl des Probenmaterials

Als Untersuchungsmaterial diente Filet (M. psoas major) und Roastbeef (M. longissimus dorsi) in Höhe der 6. bis 9. Rippe von 10 Versuchs- und

7 Kontrolltieren des Fütterungsversuches A. Das Filet wurde als ganzes und das Roastbeef als Teilstück von 2 bis 3 kg 24 Stunden nach der Schlachtung entnommen und zur Reifung bei $+4^{\circ}\text{C}$ 8 Tage aufbewahrt.

2.3.3.2. Triangeltest, gekoppelt mit bewertender Prüfung

Die Ausführung des Tests erfolgte in Anlehnung an die DIN-Vorschrift 10 951.

Kurzbeschreibung:

In unterschiedlicher Reihenfolge aufgestellte Fleischproben wurden als Dreier-Probengruppe sensorisch geprüft. Bei jeder Dreiergruppe waren 2 Proben identisch (Versuchs- oder Kontrolltier). Es galt nun, die von den beiden anderen abweichende Probe herauszufinden. Anschließend wurden die einzelnen Fleischqualitätsmerkmale mit Hilfe einer Notenskala bewertet.

Prüfpersonen:

Als Prüfpersonen standen 9 "Sensoriker" nach Definition der DIN-Vorschrift 10 950 zur Verfügung. Der Einsatz der Prüfer erfolgte als Einzelprüfpersonen.

Prüfraum:

Der Prüfraum war gleichmäßig hell ausgeleuchtet, geräuscharm und geruchsneutral (nicht identisch mit dem Zubereitungsraum der Proben). Er entsprach weitgehend den Anforderungen der DIN-Vorschrift 10 962.

Prüfgefäße:

Für zu garende Proben wurden Bechergläser, Duran^R, 400 ml, hohe Form, ohne Ausguß, verwendet. Als Abdeckung und gleichzeitig als Unterlage beim Verkosten dienten Deckel und Böden von Glaspetrischalen ($\varnothing$ 10 cm). Rohes Fleisch wurde auf mit Alufolie ausgeschlagenen Tablett zur Beurteilung vorgelegt.

Vorbereitung der Proben:

Frisches Fleisch:

Zur Testung in rohem Zustand wurden jeweils frisch abgeschnittene Scheiben von ca. 1 cm Dicke vorgelegt. Um strukturelle Gemeinsamkeiten von Fleischscheiben desselben Muskelstranges auszuschalten, wurden die Randfaszien entfernt und die Scheiben auf gleiche Größe und Form zugeschnitten. Jede Scheibe wurde mit einem aufklappbaren Taschenschnitt (Schnittführung parallel zur Scheibenoberfläche durch ca. die halbe Scheibe) versehen.

Kochprobe:

Die Proben wurden mittels Mikrowellen-Erhitzung gegart. Es wurden Fleischwürfel von ca. 3 cm Seitenlänge und 2 cm Dicke, möglichst fett- und sehnensfrei, zugeschnitten und zusammen mit einem Teelöffel Wasser in die Prüfbechergläser verbracht. Nach Abdecken mit Glasdeckeln (Petrischalen) wurde für 2 min in einem Mikrowellenherd (Bosch, Typ MG 60) gegart. 6 Proben (für 2 Prüfer) konnten so auf einmal bereitete werden.

Verschlüsseln der Proben:

Die Proben wurden mit den Buchstaben A, B und C verschlüsselt. Gleiche Bezeichnung bei Roastbeef und Filet und bei rohen und gegarten Proben war nicht gleichbedeutend mit identischen Tieren.

Durchführung:

Pro Prüfung wurde nacheinander folgendes Prüfgut vorgelegt: 3 Scheiben Roastbeef, roh; 3 Scheiben Filet, roh; 3 gegarte Roastbeefwürfel und 3 gegarte Filetwürfel, jeweils in abgedeckten Bechergläsern. Die Bechergläser wurden auf Wärmeplatten (Rechaud) gehalten, die Glasdeckel dienten als Unterlage bei der Verkostung. Bei jeder Dreiergruppe waren von den mit A, B und C gekennzeichneten Proben 2 identisch, d.h. vom gleichen Tier, Versuchs- oder Kontrolltier in zufälliger Anordnung. Es sollte nun jeweils die einzelne, von den beiden anderen abweichende Probe angegeben werden. Anschließend sollten bei den einzelnen Proben A, B und C die Kriterien Geruch, Farbe und Marmorierung (rohe Proben) sowie Geruch, Geschmack, Struktur, Konsistenz und Saftigkeit (gegarte Proben) nach einer Punkteskala von 1 bis 3 bewertet werden. Es bestand auch die Möglichkeit, halbe Punkte zu geben. Ein Bewertungsschlüssel ordnete der Ziffer 1 immer die überdurchschnittlichen Fleischeigenschaften zu, Ziffer 2 kennzeichnete durchschnittliche Qualität und 3 stand meist für eher negative Merkmale. Der Geruch des frischen Fleisches wurde nach Aufklappen des Taschenschnittes geprüft. Bei den noch heißen und auf Wärmeplatten warmgehaltenen Bechergläsern mit den gegarten Fleischstücken wurde unmittelbar nach Abheben der Glasdeckel der austretende Dampf geruchsmäßig geprüft.

Auswertung:

Die Ergebnisse der Dreiecksprüfungen gleichen Prüfgesetzes wurden zusammengestellt und aus Tabelle 1 der DIN-Vorschrift 10 951 wurde entnommen, ob sich statistisch gesicherte Unterschiede ergeben haben.

Zur Auswertung der bewertenden Prüfung wurden nur die Beurteilungen derjenigen Prüfer herangezogen, die im vorausgegangenen Triangeltest die abweichende Probe richtig erkannt hatten. Die relative Häufigkeit der einzelnen Noten für die einzelnen Kriterien bei Versuchs- und Kontrolltieren wurde graphisch dargestellt.

2.3.4. Darstellung von Protein- und Enzymmustern verschiedener Muskeln und Organe mittels isoelektrischer Fokussierung

2.3.4.1. Prinzip der isoelektrischen Fokussierung

Das Prinzip der isoelektrischen Fokussierung beruht, wie auch bei anderen elektrophoretischen Verfahren, auf der Wanderung geladener Teilchen in einem Stabilisierungsmedium, durch das ein Strom fließt. Bei der isoelektrischen Fokussierung werden nun dem Stabilisierungsmedium (z.B. Polyacrylamid) spezielle Trägerampholyte (eine Vielzahl aliphatischer Polyamino-polycarbonsäuren) zugegeben, welche im elektrischen Feld einen linearen pH-Gradienten aufbauen.

Wird nun ein Proteingemisch analysiert, so wandern die Proteinmoleküle, entsprechend ihrer Ladung, zur gegensätzlich geladenen Elektrode. Sie bewegen sich dabei durch den pH-Gradienten, wobei sie graduell an Ladung verlieren, bis schließlich aus der Anzahl ihrer sauren und basischen Funktionsgruppen und dem pH-Wert des umgebenden Mediums die Nettoladung Null resultiert. Dieser pH-Wert ist identisch mit dem isoelektrischen Punkt des Proteins, das sich an dieser Stelle konzentriert (fokussiert).

Im Vergleich zu anderen elektrophoretischen Verfahren zeichnet sich die Elektrofokussierung dadurch aus, daß der Diffusion der getrennten Proteine entgegengewirkt wird. Sobald sich nämlich das fokussierte Protein von seinem isoelektrischen Punkt entfernt, nimmt es eine positive oder negative Ladung auf und wird so lange wandern, bis die Ladung am isoelektrischen Punkt wieder Null beträgt. Daraus resultiert die hohe Auflösung des Verfahrens (NEUMANN, 1976).

2.3.4.2. Probenauswahl und -aufbereitung sowie apparative Ausrüstung

Geräte (Fa. LKB-Produkter AB, Bromma):

Multiphor 2117, Power Supply 2103, Multitemp 2209, Staining kit;

Fertiggele:

Für die isoelektrische Fokussierung in Dünnschichtgelen (IEF):

Ampholine PAGplate pH 3.5 - 9.5, LKB 1804-101, Geldicke ca. 1 mm.

Für die isoelektrische Fokussierung in Ultradünnschichtgelen (UDIEF):

Servalyt Precotes pH 3 - 10, Fa. Serva Heidelberg, Geldicke 0.1 mm.

Proben:

Als Untersuchungsmaterial dienen *M. longissimus dorsi*, *M. adductor*, Leber (Spigel'scher Lappen), Niere, Milz und Pankreas, die beiden letztgenannten Organe nur bei Mastversuch A. Jeweils ca. 10 g wurden ca. 30 min nach der Schlachtung entnommen und sofort in flüssigen Stickstoff verbracht.

Zur Herstellung der Fleisch- und Organextrakte wurden 5 g der gefrorenen Proben grob zerkleinert und mit 5 ml Aqua dest. ca. 1 min homogenisiert (Ultra Turrax, Fa. Jahnke und Kunkel, Staufen i. Breisgau). Anschließend wurde zentrifugiert (30 min, 4000 U/min) und der Überstand zur Entfernung von zum Teil vorhandenen Fettpartikeln filtriert (Selecta Faltenfilter $\varnothing$ 90 mm, Schleicher und Schüll). Das Filtrat wurde auf mehrere Eppendorf Reaktionsgefäße 1.5 ml, Nr. 3810, verteilt und bis zur Benutzung bei -23°C tiefgefroren (max. 4 Wochen).

2.3.4.3. Proteinmuster von *M. longissimus dorsi*, *M. adductor*, Pankreas, Leber, Niere und Milz

Die Ausführung der Fokussierung erfolgte im wesentlichen nach Angaben der Firmen LKB, Bromma und Serva, Heidelberg.

Nach Auflegen des Gels auf die Kühlplatte (10^0 C) des Multiphor-Gerätes wurden die mit folgenden Lösungen getränkten Elektrodenstreifen aufgelegt:

IEF: Anode: 1M H_3PO_4
Kathode: 1M NaOH

UDIEF: Anode: 0.83 g L-Asparaginsäure (Serva Nr. 14180)
0.92 g L-Glutaminsäure (Serva Nr. 23000), gelöst in
250 ml Aqua dest.

Kathode: 30 ml Ethylendiamin (Serva Nr. 11270)
1.09 g L-Arginin freie Base (Serva Nr. 13909)
0.91 g L-Lysin freie Base (Serva Nr. 28195)
mit Aqua dest. auf 250 ml aufgefüllt

Einstellung am Stromversorger:

	IEF	UDIEF
Leistung (W)	30	4.5
max. Spannung (V)	1500	1200
max. Stromstärke (mA)	50	10

Dauer der Vorfokussierung (vor Probenaufgabe):

IEF: 1h

UDIEF: 0.5h

Probenapplikation:

IEF: Die mit den PAGplates mitgelieferten Filterpapierplättchen wurden in die Probenflüssigkeit eingetaucht und in Position 7 (neben Anode) der im PAGplate-kit enthaltenen Schablone mit der schmalen Seite parallel zu den Elektroden aufgelegt.

UDIEF: Das Aufbringen von je 5 µl Probenflüssigkeit erfolgte mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette und eines Applikatorstreifens, der mit den Precotes (Serva-Gelplatten) mitgeliefert wurde.

Dauer der Fokussierung:

IEF: 1.5h

UDIEF: 1.5h

Nach Beendigung der Fokussierung wurde bei der IEF mit einer Oberflächen-elektrode der Fa. LKB (Nr. 2117-111) der pH-Gradient in 1cm-Abständen zwischen Kathode und Anode gemessen. Dann wurde nochmals 10 min nach-fokussiert.

Fixieren, Färben, Konservieren:

Fixierlösung:

IEF: 57.5 g Trichloressigsäure + 17.3 g Sulfosalicylsäure in 500 ml Aqua dest.

UDIEF: 20 % Trichloressigsäure in Aqua dest.

Färbelösung:

IEF: 0.46 g Coomassie Brilliant Blue R-250 in 400 ml Entfärbelösung (zum Anfärben auf 60° C erhitzt)

UDIEF: 0.1 g Serva Blue R in 250 ml Entfärbelösung

Entfärbelösung:

IEF: 500 ml Methanol + 160 ml Eisessig mit Aqua dest. auf 2000 ml aufgefüllt

UDIEF: Methanol : Eisessig : Aqua dest. = 40 : 10 : 50

Konservierungslösung:

IEF: 10 % Glycerin in Entfärbelösung

UDIEF: Keine

Ablauf der einzelnen Arbeitsgänge (in min):

	IEF	UDIEF
Fixieren	60	15
Waschen mit Entfärbelösung	5	5
Färben	10	5
Entfärben (3x Badwechsel)	10 ^x)	5
Konservieren	60	-

^x) mit Abwischen der Geloberfläche mit Zellstoff

Trocknung:

IEF: Die PAGplates wurden anschließend über Nacht (18 - 20h) auf einer Glasscheibe getrocknet, dann wurde die mitgelieferte Plastikfolie auf die klebrige Geloberfläche aufgewalzt (Gel muß relativ trocken sein, sonst verminderte Haltbarkeit)

UDIEF: Die Servalyt Precotes wurden im Labor mittels einer Klammer zum Trocknen aufgehängt (ca. 6h).

Auswertung:

Ausgewertet wurde optisch auf einem Leuchttisch im Hinblick auf qualitative Übereinstimmung der Pherogramme von Versuchs- und Kontrolltieren (Identität der einzelnen Banden) sowie unter Berücksichtigung deutlicher Intensitätsunterschiede derselben Bande.

2.3.4.4. Enzymmuster von Leber und Niere

Esterasen:

Als Untersuchungsmaterial dienten Leber- und Nierenproben der Tiere des Fütterungsversuches A.

Es wurde die UDIEF angewendet; die technischen Parameter waren dieselben wie unter 2.3.4.3. Die selektive Anfärbung der Esterasen wurde nach Angaben von STEGEMANN und LOESCHKE (1976) ausgeführt:

Nach Ablauf der Fokussierzeit wurde das Gel in 200 ml 0.15 M Phosphatpuffer pH 7.2 verbracht und 5 min geschüttelt.

Phosphatpuffer: A = 107.44 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ in 2000 ml Aqua dest.

B = 41.4 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 1 \text{H}_2\text{O}$ in 2000 ml Aqua dest.

120 ml Lösung A + 80 ml Lösung B mischen

40 mg 1-Naphthylacetat (Serva 30040) wurden in 3 - 5 ml Aceton gelöst, mit wenig Aqua dest. bis zur Trübung versetzt und sofort in das lebhaft geschüttelte Gelbad verteilt. Dann wurden 100 mg Fast Blue RR Salz (Serva 21279) zugefügt, das durch Verreiben mit mehreren kleinen Portionen Aqua dest. gelöst worden war. Die Färbedauer betrug 15 min, danach erfolgte Abspülen mit Leitungswasser und Einlegen des Gels in ein Waschbad (Aqua dest. : Methanol : Eisessig = 75 : 20 : 5) für 30 min.

Saure Phosphatase:

Als Untersuchungsmaterial dienten Leber- und Nierenproben der Tiere des Mastversuches B.

Es wurde die IEF angewendet; die technischen Parameter waren dieselben wie unter 2.3.4.3. Die selektive Anfärbung der sauren Phosphatase-Isoenzyme wurde nach Angaben von BONTE und BODE (1981) ausgeführt:

Nach Ablauf der Fokussierzeit wurde das Gel in folgender Reaktionslösung 30 min bei Zimmertemperatur inkubiert: 240 mg Na- α -Naphthylphosphat (Sigma No. N-7255) und 240 mg Fast Garnet GBC (Sigma No. F-6504) in 250 ml 0.2 M Citratpuffer pH 5.5; anschließend erfolgte 10-minütiges Fixieren, Waschen in Entfärbelösung und 60-minütiges Konservieren.

2.4. Prüfung einzelner klinisch-chemischer Parameter der Mastrinder

Die Blutentnahme zur Serumgewinnung erfolgte gegen Ende der Mast und bei der Schlachtung bei den Tieren des Fütterungsversuches B.

2.4.1. Bestimmung von Harnstoff im Serum

Die Bestimmung wurde mit Teststäbchen (Merckognost Harnstoff, Merck Art. 11001) entsprechend der Gebrauchsanleitung für die Normalmethode durchgeführt. Nach Benetzen der Reaktionszone des Teststäbchens mit 10 μ l Serum wurde nach 30 min die Blaufärbung auf der Indikatorzone des Teststäbchens in mm abgelesen und hiermit der Harnstoffgehalt in mmol/l oder mg/100 ml direkt aus einer beiliegenden Tabelle ermittelt.

Nach Angaben des Herstellers korrelieren die mit dieser Methode gefundenen Harnstoff-Werte gut mit der Autoanalyser-DAM-Methode ($y = 1.0x - 0.1$; $r = 0.975$ $s_{yx} = 5.7$ mg/100 ml).

2.4.2. Bestimmung der Enzyme GOT, GPT und alkalische Phosphatase im Serum

Die Enzyme wurden mit monotest GOT opt. (Nr. 124362), monotest GPT opt. (Nr. 124524) und monotest Alkalische Phosphatase opt. (Nr. 123846), alle von Boehringer Mannheim GmbH, photometrisch bestimmt. Die Methode ist jeweils die optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie, die Ausführung geschah nach Angaben der Gebrauchsanleitungen.

2.4.3. Gaschromatographische Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft

Untersuchungsmaterial war Pansensaft, der 2x in 14-tägigem Abstand im letzten Drittel der Mastperiode mit der Schlundsonde gewonnen wurde. Die Entnahme erfolgte jeweils ca. 1 Stunde nach Fütterung.

Die gaschromatographische, quantitative Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren erfolgte modifiziert nach HOLDEMAN et al. (1977).

Geräte:

Gaschromatograph Sigma 2 (Perkin Elmer)

Säule: Gepackte Glassäule, 6 feet, $\varnothing$ 1/4", 8 % SP-1000 + 1 % H_3PO_4
auf Chromosorb W/AW 80/100 mesh

Detektor: FID

Schreiber: Recorder 56 (Perkin Elmer)

Integrator: M3B (Perkin Elmer)

Arbeitsbedingungen:

Ofentemperatur: 140⁰ C, isotherm

Injektortemperatur: 200⁰ C

Detektortemperatur: 250⁰ C

Trärgas (N_2) : 25 ml/min

Einspritzmenge : 3 μ l

Probenaufbereitung:

1.4 ml Pansensaft + 2 Tropfen H_2SO_4 (konz) + 1 ml Äther,

1 min schütteln, kurz zentrifugieren, aus dem Ätherüberstand wird injiziert.

Nach Ätherzusatz wurden die Zentrifugenröhrchen verschlossen und im Eisbad gehalten.

Quantitative Bestimmung:

Es wurde die Methode mit externem Standard (absolute Eichung) angewandt. Hierbei berechnet sich die Konzentration i einer Komponente wie folgt:

$$i = \frac{RF \times A}{W_{sp1}} \times 100$$

i = Konzentration der Komponente

RF = Eichfaktor

A = Peakfläche

W_{sp1} = Gewicht oder Volumen der Probe

Standardlösung: Je 1 Vol % Essig-, Propion-, Isobutter-, Butter-, Isovalerian- und Valeriansäure (alle pA-Qualität) in Aqua dest.

Die Standardlösung wurde für die Injektion in analoger Weise aufbereitet wie der Pansensaft. Der RF-Wert für jede Fettsäure wurde nach 3 Eichläufen berechnet.

2.5. Erhebung abweichender, pathologisch-anatomischer Befunde

Unmittelbar nach Ausweiden der Tiere wurden die Schlachttierkörper und Organe einer genauen Adspektion und, wenn erforderlich, Palpation nach fleischbeschaulichen Gesichtspunkten unterzogen. Lebern und Nieren wurden angeschnitten.

Bei Fütterungsversuch B wurden folgende Magen- Darmlymphknoten entnommen und angeschnitten: Lnn. ruminales dextri, Lnn. reticuloabomasiales, Lnn. omasiales, Lnn. jejunaes, Lnn. caecales und Lnn. colici.

3. Ergebnisse

3.1. Mikrobiologische Befunde:

3.1.1. Keimgehalt des getrockneten Legehennenkotes

In den 4 bei den Fütterungsversuchen eingesetzten Chargen lag die Gesamtkeimzahl (GKZ) bei $\bar{x} = 6.41$ (log n) mit $s = 0.21$. Die anaerob kultivierbaren Anteile lagen mit $\bar{x} = 5.64$ bei $s = 0.71$ durchschnittlich um eine knappe Zehnerpotenz niedriger. Ansonsten waren nur Mikrokokken und Pseudomonaden mit $\bar{x} = 4.59$ bzw. 3.65 und Clostridien mit 2.56 festzustellen. Nur sporadisch ließen sich Enterokokken und Enterobacteriaceae und dann auch nur in geringen Mengen zwischen Log n = 2 und 4 nachweisen. Der Keimgehalt dieses Produktes wurde im wesentlichen von den überlebenden Bazillen bestimmt. Bei der Wiederholungsuntersuchung der Charge TK 5 traten nur geringfügige Änderungen des Keimgehaltes auf. Salmonellen waren in keinem Fall nachweisbar (Tab. 10).

3.1.2. Keimgehalt der Maissilage

Die an Versuchs- wie Kontrolltiere als Hauptenergieträger verfütterte Maissilage lag mit ihrer Gesamtkeimzahl (GKZ) zwar auch bei $\bar{x} = 6.85$ (log n), dieser Wert wurde aber durch die Laktobazillen bestimmt. Bazillen kamen in Mengen zwischen log 4 und 5 vor, also in wesentlich niedrigeren Mengen als im Legehennentrockenkot. Ansonsten ließen sich regelmäßig nur noch Mikrokokken in geringen Mengen (zwischen log 2 und 4) bei beiden Silagechargen nachweisen (Tab. 10).

3.1.3. Keimgehalt des Intestinaltraktes der Mastrinder

Die mittlere aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl sowie die Anteile an Enterobacteriaceae, Pseudomonaden, Mikrokokken, Enterokokken, Bazillen, Laktobazillen und Clostridien in Pansen-, Jejunum-, Caecum- und Coloninhalt der Mastrinder des Fütterungsversuches A sind in Tab. 11 dargestellt. Zwischen den Mastgruppen I (Kontrollen), II und III traten keine signifikanten Unterschiede auf. In Pansen- und Caecuminhalt zeigte sich eine Tendenz zu vermehrtem Bazillenanteil bei den mit Trockenkot gefütterten Tieren (Abb. 1). Die Clostridiengehalte waren bei allen Mastgruppen niedrig, Salmonellen konnten in keinem Fall nachgewiesen werden.

Tab. 10

Keimgehalt der Legehennentrockenkot (TK)- und Maissilage (SI)-Chargen
(log n/g Probe, unterer Grenzwert 2.0 bzw. 1.0 bei Cl.)

Mast- Charge vers. Entnahme	Unters.	GKZ aerob / anaerob	Baz. aerob / anaerob	Einzelne Keimgruppen					
				Mc.	Ec.	Eb. x)	Ps.	Cl.	Lb.
A	<u>TK</u> 1 ⁰ 29.1.80	5.2.80 6.26 5.72		3.70			4.90	2.30	
	2 22.4.80	22.4.80 6.70 5.50		3.65				2.40	
	4 27.1.81	14.4.81 6.57 6.80	5.95	5.30	2.00		4.90	/	
	5 19.1.82	26.1.82 6.34 5.08		4.60	3.60	2.30	2.30	2.85	
B	17.5.82	19.5.82 6.20 5.08		5.71	2.30		2.48	2.70	
		$\bar{x}_G$ 6.41 5.64	6.29 5.64	4.59			3.65	2.56	
		s 0.21 0.71	0.27 0.71	0.93			1.45	0.26	
A	<u>SI</u> 2 27.1.81	14.4.81 5.74 6.48	4.90	2.85			4.15	/	6.34
B	3 19.1.82	26.1.82 4.08 6.70	4.00 2.60	3.08					6.66
	17.5.82	19.5.82 5.48 7.49	3.95	3.78	2.85				7.42
		$\bar{x}_G$ 5.10 6.85	4.79	3.24					6.81

0) = Pellets, / = nicht mit gleicher Methodik geprüft, x) Salmonellen negativ

GKZ = Gesamtkeimzahl

Baz. = Bazillen

Mc. = Mikrokokken

Ec. = Enterokokken

Eb. = Enterobacteriaceae

Ps. = Oxidase-positive Gramnegative (Pseudomonaden)

Cl. = Clostridien (sulfitreduzierend)

Lb. = Laktobazillen

$\bar{x}_G$ = arithmetisches Mittel der Logarithmen

s = Standardabweichung

Leere Felder: Keimgehalte unter Grenzwert

Panseninhalt:

In den Mastgruppen I (Kontrollgruppe), II und III des Fütterungsversuches A waren die Gesamtkeimzahlen (GKZ) mit $\bar{x} = 6.18$ ($\log n$) bei $s = 0.46$, $\bar{x} = 6.04$ bei $s = 0.48$ und $\bar{x} = 6.18$ bei $s = 0.56$ praktisch identisch. Die anaerob kultivierbaren Anteile lagen jeweils eine knappe halbe Zehnerpotenz höher. Die dominierende Keimgruppe waren die Laktobazillen, die mit ca. $\log 6$ bei den 3 Versuchsgruppen ebenfalls in etwa gleicher Menge vorkamen.

Von den restlichen Keimfloraanteilen kamen lediglich noch Bazillen in größerer Anzahl vor. Mit $\bar{x} = 4.83$ bei $s = 0.98$ für die Kontrollgruppe und $\bar{x} = 5.25$ bei $s = 0.57$ sowie $\bar{x} = 5.51$ bei $s = 0.87$ für Versuchsgruppe II und III zeigte sich hier bei den Versuchstieren eine Tendenz zu einem etwas höheren Bazillengehalt, wobei jedoch die Streuung innerhalb der Gruppen jeweils erheblich war (Abb. 1).

Clostridien ließen sich bei Versuchs- und Kontrolltieren in nur geringen Mengen nachweisen, Salmonellen wurden in keinem Fall gefunden (Tab. 11).

In den Mastgruppen IV und V (Kontrolltiere) des Fütterungsversuches B lagen die aeroben und anaeroben Gesamtkeimzahlen in der gleichen Größenordnung wie bei Fütterungsversuch A. Die Bazillengehalte waren diesmal bei Versuchs- und Kontrolltieren annähernd gleich ($\bar{x} = 5.52$ bei $s = 0.58$ und $\bar{x} = 5.32$ bei $s = 0.57$), lediglich beim anaerob kultivierbaren Bazillenanteil zeigte sich eine Tendenz zu höheren Gehalten bei den Versuchstieren. Die Clostridienanteile waren wieder bei beiden Gruppen gering (Tab. 12).

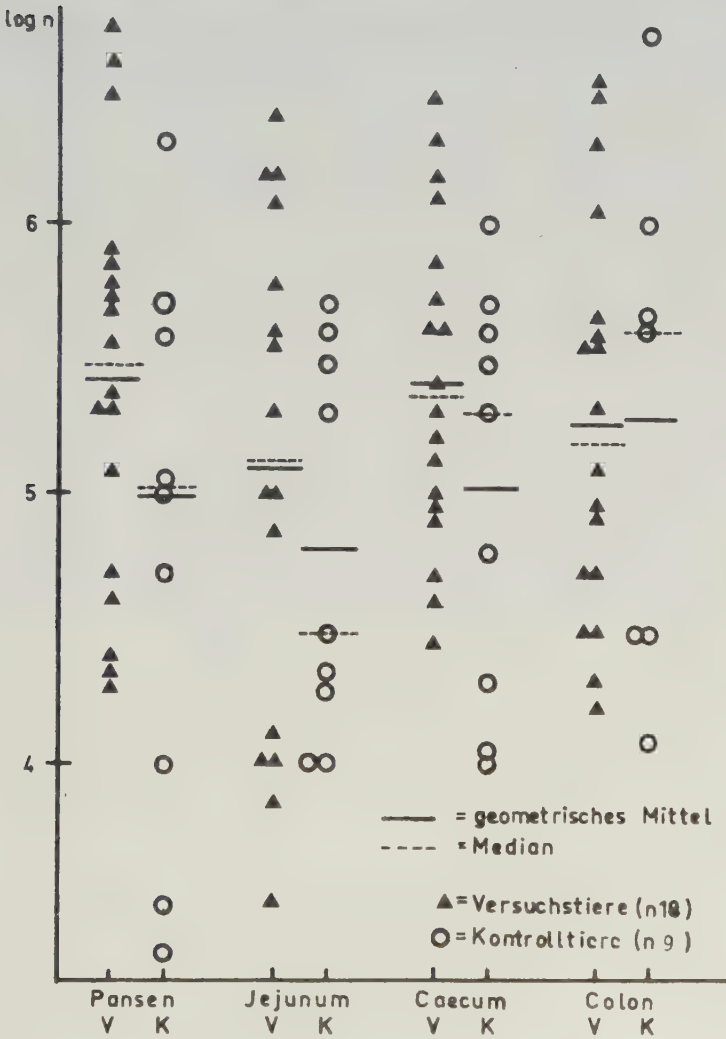
Jejunum-Inhalt:

Die aerobe GKZ im Dünndarm lag mit $\bar{x} = 5.58$ bei $s = 0.57$, $\bar{x} = 5.63$ bei $s = 1.04$ und $\bar{x} = 6.09$ bei $s = 0.78$ bei den Mastgruppen I (Kontrollen), II und III in der gleichen Größenordnung. Als anaerobe GKZ wurde für die Gruppen I, II und III $\bar{x} = 6.06$ bei $s = 0.73$, $\bar{x} = 6.83$ bei $s = 0.68$ und $\bar{x} = 6.71$ bei $s = 0.70$ ermittelt, also ein um eine knappe Zehnerpotenz höherer anaerober Keimgehalt bei den Versuchstieren.

Enterobacteriaceae, Pseudomonaden und Mikrokokken konnten mit großen individuellen Schwankungen in Mengen von 3 bis 5 ($\log n$) bei Versuchs- und Kontrolltieren gleichermaßen nachgewiesen werden.

Abb. 1

ERHÖHTER BAZILLENGEHALT BEI ZUFÜTTERUNG VON LEGEHENNEN-
TROCKENKOT AN MASTBULLEN



Tab. 11 Keimgehalt ($\bar{x}_G$) im Intestinaltrakt der Mastbullen des Fütterungsversuches A (log n/g Probe, Standardabweichung)

(unterer Grenzwert 2.0 bzw. 1.0 bei Cl.)

Mast- gruppe	Magen- Darm- abschnitt	anaerob	GKZ	Eb.	Ps.	Mc.	Ec.	Baz.	Lb.	Cl.	Salm.
I (Ko)	Pansen	6.18 0.46	6.58 0.64	3.82 1.08	4.43 0.76	4.06 1.05	2.77 0.65	4.83 0.98	6.05 0.69	1.57 0.77	-
	Jejunum	5.58 0.57	6.06 0.73	4.60 1.32	3.99 0.68	3.22 0.74	2.94 1.47	4.80 0.71	4.74 1.47	2.40 1.05	-
	Caecum	6.03 0.51	6.58 0.77	4.74 1.32	4.11 0.63	3.43 0.97	2.70 1.32	5.02 0.76	5.95 0.90	2.79 0.65	-
	Colon	6.09 0.71	6.83 0.88	5.27 0.95	3.85 1.15	3.66 1.08	3.16 1.77	5.28 0.96	5.65 1.41	2.52 0.41	-
II n = 10	Pansen	6.04 0.48	6.65 0.40	3.17 1.18	4.30 0.65	4.66 0.31	2.65 0.68	5.25 0.57	5.87 0.79	1.96 0.63	-
	Jejunum	5.63 1.04	6.83 0.68	5.16 0.95	4.03 0.70	4.09 1.31	2.57 1.05	4.95 1.04	5.12 1.53	2.39 1.14	-
	Caecum	6.07 0.36	7.07 0.70	5.30 0.51	4.65 0.50	4.03 1.17	2.63 1.16	5.51 0.62	5.35 1.22	2.93 0.72	-
	Colon	6.54 0.64	7.27 0.39	5.62 0.67	4.78 0.55	4.21 0.95	2.93 1.36	5.33 0.82	5.80 1.07	2.78 0.75	-
III n = 10	Pansen	6.18 0.56	6.51 0.85	3.51 0.97	4.35 0.68	3.81 1.60	2.54 0.67	5.51 0.87	6.06 0.90	1.71 0.91	-
	Jejunum	6.09 0.78	6.71 0.70	4.94 0.91	4.59 1.04	3.29 1.43	2.08 0.14	4.79 0.80	4.99 1.31	2.68 1.07	-
	Caecum	6.17 0.77	6.73 0.73	5.10 1.27	4.01 1.37	3.28 1.79	2.11 0.21	5.45 0.57	5.87 0.79	3.00 0.56	-
	Colon	6.11 0.55	6.45 0.65	4.94 1.14	4.56 0.78	3.61 1.25	2.13 0.19	5.17 0.67	5.73 0.83	3.42 0.35	-

GKZ = Gesamtkeimzahl
Eb = Enterobacteriaceae Ps = Pseudomonaden Ec = Enterokokken Lb = Laktobazillen Salm = Salmonellen
Mc = Mikrokokken Baz = Bazillen Cl = Clostridien

Tab. 12

Keimgehalt des Panseninhaltes der Mastbullen des Fütterungsversuches B
(log n/g Probe, unterer Grenzwert 3.0 bzw. 1.0 bei Cl.)

Mast- gruppe	Tier Nr.	GKZ		Baz.		Cl.
		aerob	anaerob	aerob	anaerob	
IV	2	6.38	7.38	6.11	<3.00	2.15
	3	7.08	5.71	6.48	4.90	2.15
	4	6.18	6.68	5.70	5.30	2.41
	5	6.68	6.90	5.95	6.00	2.48
	8	5.40	6.54	5.30	5.70	2.30
	9	5.72	7.57	5.45	5.00	1.30
	10	5.66	7.59	4.95	5.30	1.00
	12	5.79	7.54	4.90	5.30	2.00
	13	5.43	7.82	4.85	4.00	1.85
	$\bar{x}_G$	6.04	7.08	5.52		1.96
	s	0.58	0.68	0.58		0.50
V (Ko)	1	6.49	6.41	5.90	6.08	2.00
	6	6.46	6.85	5.70	4.30	2.32
	7	6.32	6.34	5.48	<3.00	2.08
	11	5.51	6.95	4.48	4.48	2.70
	14	6.41	6.52	5.04	<3.00	2.78
	$\bar{x}_G$	6.24	6.61	5.32		2.38
	s	0.41	0.27	0.57		0.35

Große Streubreite wiesen auch die Bazillengehalte in den 3 Mastgruppen auf, die Mittelwerte lagen für alle 3 Gruppen bei etwa log 5. Clostridien waren wieder in nur geringen Mengen vorhanden; die Salmonellen-Nachweise erbrachten durchweg negative Befunde (Tab. 11).

Caecum-Inhalt:

Die aerobe GKZ im Blinddarm war bei den Gruppen I (Kontrolltiere), II und III im Mittel praktisch gleich ($\bar{x} = 6.03$ bei $s = 0.51$, $\bar{x} = 6.07$ bei $s = 0.36$ und $\bar{x} = 6.17$ bei $s = 0.77$), der anaerob anzüchtbare Gesamtkeimgehalt lag bei den Kontrolltieren eine halbe Zehnerpotenz und bei den Versuchstieren etwa eine Zehnerpotenz über der aeroben GKZ.

Die einzelnen Keimfloraanteile lagen in ähnlicher Menge und Verteilung wie im Dünndarm vor. Die Bazillen zeigten mit $\bar{x} = 5.02$ bei $s = 0.76$ (Kontrollgruppe) und $\bar{x} = 5.51$ bei $s = 0.62$ bzw. $\bar{x} = 5.45$ bei $s = 0.57$ für die Versuchsgruppen II und III wieder eine Tendenz zu verstärktem Auftreten bei den Versuchstieren (Abb. 1). Clostridien konnten bei allen 3 Gruppen in der Größenordnung von log 3 nachgewiesen werden, Salmonellen fehlten (Tab. 11).

Colon-Inhalt:

Generell konnte im Enddarminhalt eine Nivellierung von in kranialen Abschnitten des Intestinaltraktes vorhandenen quantitativen Unterschieden der Keimflora von Versuchs- und Kontrolltieren festgestellt werden. Die aerobe GKZ im Enddarm entsprach bei den Gruppen I, II und III in etwa den Werten in Pansen und Caecum. Die anaerobe GKZ lag jeweils wieder etwas höher, jedoch ohne Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren erkennen zu lassen.

Die Enterobacteriaceae-, Pseudomonaden- und Mikrokokkenanteile unterschieden sich kaum von denen in den anderen Darmabschnitten. Die Bazillengehalte lagen gruppeneinheitlich bei etwa log 5.3. Clostridien konnten in geringer Zahl, Salmonellen nicht ermittelt werden (Tab. 11).

3.1.4. Beeinflussung der Pansenmikroflora durch die im Legehennentrockenkot dominierenden Mikroorganismen der Gattung Bacillus

Die mikrobiologischen Befunde bei Fütterungsversuch A führten bei Mastversuch B zur besonderen Beachtung der Bazillenflora, speziell des Pansensaftes. Die hierbei während der Mast entnommenen Pansensaftproben

zeigten bei Probenahme 14 Tage nach Beginn der Trockenkotfütterung einen deutlichen Anstieg der Bazillengehalte bis knapp 2 Zehnerpotenzen, im Vergleich zu den Werten vor Trockenkotfütterung (Abb. 2). Im weiteren Mastverlauf fielen die Bazillengehalte jedoch wieder etwa auf die Ausgangswerte zurück. Ähnlich starke Schwankungen traten bei den Kontrolltieren nicht auf.

3.1.4.1. Charakteristika und Identifizierung der Bazillenisolat aus Legehennentrockenkot

Tab. 13 zeigt morphologische und biochemische Charakteristika der aus den Legehennentrockenkot-Chargen isolierten Bazillenstämme sowie deren Spezieszugehörigkeit. Die Isolate bildeten meist β -Hämolyse, 4 der 9 Stämme waren Lecithinase-positiv, und sie wuchsen alle fakultativ anaerob (festes Nährmedium, 37⁰ C, 48h). 5 Isolate produzierten bacteriocinähnliche Substanzen, welche das Wachstum von *B. subtilis* BGA hemmten (s. 3.1.4.3.). Die Identifizierung der Spezies im Referenzlabor des Institutes für Mikrobiologie der Universität Göttingen, Dr. Claus, ergab, daß 3 der Isolate als *B. licheniformis* und der Rest als *B. subtilis* einzustufen waren.

3.1.4.2. Häufigkeit des Nachweises von Bazillenstämmen des Futters im Pansensaft und /oder Darminhalt

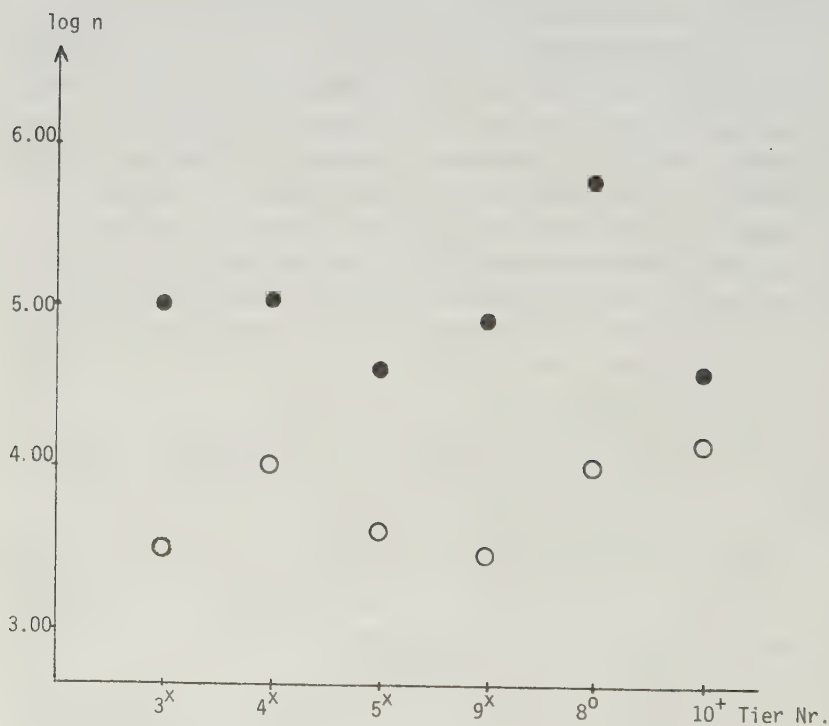
Um abzuklären, ob die hitzeselektierte Trockenkotflora auch eine qualitative Beeinflussung des Keimmilieus im Intestinaltrakt der Versuchstiere bewirkte, wurden die mit Hilfe morphologischer und biochemischer Merkmale aus Trockenkot, Maissilage und Magen- Darminhalt isolierten Bazillenstämme auf Identität überprüft.

Bei Fütterungsversuch A (einmalige Probenahme nach Schlachtung) kamen 3 Trockenkotstämme sowohl bei Versuchs- wie bei Kontrolltieren vor. 1 Isolat konnte nur bei 2 Versuchstieren gefunden werden und ein weiterer Stamm tauchte im Magen- Darmtrakt der Tiere gar nicht auf. Die Isolate aus Maissilage waren meist auch in Versuchs- sowie Kontrolltier- Magen- Darminhalt nachzuweisen (Tab. 14).

Bei den im Laufe der Mast und nach der Schlachtung entnommenen Pansensaftproben bei Fütterungsversuch B zeigten sich zwischen Versuchs- und Kontrolltieren qualitative Unterschiede im Verteilungsmuster der

Abb. 2

Bazillengehalt im Pansensaft^{a)} von Mastrindern des Fütterungsversuches B
vor und nach Beginn der Fütterung mit Legehennentrockenkot



○ = vor Trockenkotfütterung

● = nach Trockenkotfütterung

x = Probenahme am 19.1.82 und 2.2.82

o = Probenahme am 16.2.82 und 2.3.82

+ = Probenahme am 2.3.82 und 16.3.82

a) die Bazillengehalte im Pansensaft lagen generell niedriger als im Panseninhalt

Charakterisierung der Bazillenisolat aus Legehennentrockenkot

Trockenkot- Charge Mastversuch	Isolat Nr.	Blut-Agar		Eigelb-Agar		Glukose-B.		Hemmstofftest (mm Hemmhörfing) B. subtilis BGA pH 6 pH 8	Identifizierung als Spezies x)	
		Kolonie- form, -größe, aerob	-anwachsrates anaerob	Lecith.	Lipase	aerob	anaer.			
TK 2/ A	1	S III +++	S III ++	+	+	K	+	(1)	4	B. licheniformis
	2	R II +++	R I ++	+	(+)	K	-	-	2	B. subtilis
	3	S III +++	RS III +++	+	-	KT	+	(1)	3	B. licheniformis
TK 4/ A	4	S II +++	S II +++	+	+	T	-	-	3	B. subtilis
	5	RS II +++	S II ++	+	+	K	-	-	-	B. subtilis
	6	S II-III+++	S I ++	+	+	KB	-	-	-	B. subtilis
TK 5/ B	7	S II-III+++	R II +	-	-	K	+	-	2	B. licheniformis
	8	R II +++	RS I ++	+	+	KT	-	-	-	B. subtilis
	9	R II +++	S I +	+	+	K	-	-	-	B. subtilis

Glukose-B. = Glukosebouillon, β -Häm. = vollständige Hämolyse, Lecith. = Lecithinase (präzipitierter Hof), Lipase = perlmutterartige Randzone, anaer. = anaerob, S = glatt, R = rauh, I-III: Koloniegroßen (I = 1-2 mm, II = 2-4 mm, III > 4 mm)
 + bis +++ = Anwachsrate (+ = erheblich reduziert, ++ = schwächer, +++ = gut), K = Kahnhaut, B = Bodensatz, T = Trübung
 () = Testkeimwachstum reduziert

x) bestimmt im Referenzlabor des Institutes für Mikrobiologie der Universität Göttingen, Dr. Claus

Tab. 14

Häufigkeit des Nachweises von Bazillenstämmen
des Futters im Darminhalt von Mastrindern
(Fütterungsversuch A)

Stamm		Versuchstiere n = 8					Kontrolltiere n = 5				
		Σ	Ps	Je	Cae	Co	Σ	Ps	Je	Cae	Co
HK	1	3	2	3			3		1	2	1
	2	2		1		1	-				
	3	-					-				
	4	6	2	1	4		3		2	2	
	5	5	2	1	1	1	5	2	4		1
Si	1	3	2	3			3		1	2	1
	2	6	2	1	4		3		2	2	
	3	-					1		1		
	4	2	1	1			1	1		1	
	5	-					-				

[HK] = Isolate aus Hühnertrockenkot

[Si] = Isolate aus Maissilage

Ps = Pansen, Je = Jejunum, Cae = Caecum, Co = Colon

einzelnen Bazillenisolate (Tab. 15). Von den 4 aus Trockenkot isolierten Stämmen kam ein Bacteriocin-produzierender Stamm überwiegend bei Versuchstieren vor (Isolat Nr. 7). Ein verstärktes Auftreten von Trockenkotiisolaten auch bei Kontrolltieren war überwiegend in der Endphase der Mast festzustellen. Die 2 nur aus Maissilage isolierten Stämme wurden fast ausschließlich bei Kontrolltieren wiedergefunden. Die Isolate Nr. 4 und 32 mit unbekannter Herkunft traten gleichermaßen häufig bei Versuchs- und Kontrolltieren auf. Die ebenfalls Bacteriocin-produzierenden Stämme Nr. 36 und 46 kamen nur sporadisch bei jeweils einem Tier vor.

Verteilungsmuster unterschiedlicher Bazillenstämme im Pansen saft der Mast rinder des Fütterungsversuches B

Mast- gruppe	Tier Nr.	Bazillenstamm Nr. Herkunft																Probe- nahme am:			
		Trockenkot			Silage			unbekannt													
		6	7	8	9	10 ^x	9	33	4	8	11	20	28	32	34	36	39	46	55	114	118
IV	2	□	●	■	●				■		●			■	●						
	3		□	●	●				■		●							■	●		
	4		□	●	●				■					■					●		
	5		●	●	●				■					●					●		
	8		●	●	●				■		△			●						●	
	9		●	●	●				■		□			●							△
	10		○	○	○								■	●							□
V (Ko)	1	△	●	●	■				■		■			●			●				△
	6	△	●	●	●				■		△			△			●				△
	7			△	●				■		●			●			●				△
	11			△	●				■		●			●			●				△
	13		□	●	●				■		□			●							□
	14		△	△	●				■		■			●			●				△
	14		△	△	●				■		■			●			●				△

○ = Hemmsubstanz bildende Stämme
 □ = Probenahme am 2.2.82
 △ = " " 16.2.82
 ○ = " " 2.3.82
 x = " " 16.3.82

x) wurde in Trockenkot und Silage nachgewiesen
 ■ = Probenahme am 5.5.82
 △ = " " 17.5.82
 ● = " " 9.6.82
 x = " " 30.6.82

1. Hälfte der Mastperiode
 Schlachtung

Endphase
 der Mast

3.1.4.3. Bildung bacteriocinartiger Substanzen durch verschiedene Bazillenstämme des Futters

Das Auftreten unspezifischer Reaktionen beim Hemmstofftest mit Muskulatur von Tieren des Fütterungsversuches A (s. 3.2.2.) und ein vermuteter Zusammenhang mit Quantität und Qualität der Pansen- Bazillenflora führte zur Überprüfung der aus den verfütterten Trockenkotchargen und der Maissilage sowie aus Magen- Darminhalt der Bullen isolierten Bazillenstämme auf Bildung bacteriocinartiger Substanzen, welche das Wachstum des Testkeimes des vorgeschriebenen Hemmstofftests, *B. subtilis* BGA, hemmen konnten. Von den Isolaten aus Mastversuch A waren 4 von 5 Trockenkotiisolaten, 4 von 5 Silageisolaten sowie ein Drittel der 21 Magen- Darmisolate in der Lage, das Wachstum von *B. subtilis* BGA zu hemmen und zwar immer auf Platten mit pH 8 (Tab. 16). Die Radien der Hemmhöfe betrugen 2 bis 6 mm.

Eine nähere Untersuchung der physiochemischen Eigenschaften ergab jedoch für alle bacteriocinähnlichen Substanzen, produziert von Silagestämmen sowie der Mehrzahl der Magen- Darmisolate eine geringe Temperatur- und pH-Stabilität, so daß im sauren Pansenmilieu mit einer schnellen Inaktivierung dieser Stoffe gerechnet werden mußte. Als pH-stabil, vor allem im niedrigen pH-Bereich, erwiesen sich lediglich die Hemmsubstanzen zweier Trockenkotiisolate und zweier Magen- Darmisolate. Relativ temperaturstabil (bis einschließlich 80° C) waren nur die Hemmsubstanzen dreier Trockenkot- und dreier Magen- Darmisolate. Die Abschwemmung eines Trockenkotiisolates zeigte selbst nach 15-minütigem Halten bei 100° C noch Hemmaktivität. Keine der getesteten Substanzen vermochte durch eine semipermeable Membran zu diffundieren (Tab. 17).

Bei Fütterungsversuch B waren von 4 Stämmen, isoliert aus der verfütterten Trockenkotcharge sowie Pansensaft, einer hemmstoffpositiv, von 5 Silage-/Pansensaftisolaten keiner hemmstoffpositiv. Von 13 Isolaten nur aus Pansensaft hemmten 2 das Wachstum von *B. subtilis* BGA. Der Radius der Hemmhöfe betrug jeweils 2 mm (Tab. 16).

Tab. 16

Hemmstofftest^{x)} mit steril-filtrierte Bazillenabschwemmungen
(positiv = ≥ 2 mm klarer Hemmhofring)

Mast- versuch	Bazillen isolate		
	Herkunft	Anzahl	davon hemmstoff- positiv ^{o)}
A	Trockenkot/Intestinaltrakt	5	4
	Maissilage/Intestinaltrakt	5	4
	Intestinaltrakt	21	8
B	Trockenkot/Pansensaft	4	1
	Maissilage/Pansensaft	5	0
	Pansensaft	13	2

^{x)} nach Anlage 4 AB.A zum FIBG, jedoch als Lochagartest

^{o)} die positiven Reaktionen traten immer auf Hemmstoffplatten mit pH 8 auf

Tab. 17

Physiochemische Eigenschaften von Hemmsubstanzen ("Bacteriocine"?),
produziert durch Bazillenstämmen aus Legehennentrockenkot, Maissilage
und Magen- Darminhalt der Mastrinder (Fütterungsversuch A)

Isolat Nr.		Temperatur- stabilität(°C) ^{x)}					pH-Stabilität ^{o)} stabil bei pH										semiperm. Membran
Herkunft		40	60	80	100	121	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	
Mais- silage	1																- ↓
	3																
	4	+	+														
	5												+				
Legehen- nentro- korkot	1	+	+	+			+	+	+	+	+	+					
	2	+	+				+	+	+	+	+	+					
	3	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	4	+	+	+								+					
Magen- Darm- inhalt	1	+	+	+													↓
	3	+					+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	4	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	5																
	24																
	32																
	35	+	+	+							+	+					
	64																

^{x)} Die Abschwemmungen wurden 15 min bei der angegebenen Temperatur gehalten

^{o)} Die verschiedenen pH-Werte wurden 24h gehalten, anschließend Neutralisation

3.2. Ergebnisse der Hemmstofftests

3.2.1. Antibakterielle Wirkungen bei Legehennentrockenkot und Maissilage

Das direkte Aufbringen von wäßrigen Kotalaufschwemmungen auf *B. subtilis* BGA-Hemmstoffplatten gemäß Anlage 4 AB.A erbrachte immer negative Befunde. Nach Extraktion mit Acetonitril oder Methanol und 2 1/2-facher Konzentration war jedoch eine Hemmung des Testkeimwachstums festzustellen. Es zeigten sich Hemmhöfe zwischen 1 und 4 mm. Die Empfindlichkeit gegenüber 2 weiteren üblichen Testkeimen war etwa gleich. Bei allen Chargen traten positive Reaktionen auf Testplatten mit pH 6 bzw. 6.5 auf, auf Platten mit pH 8 wurde das Testkeimwachstum nur gelegentlich - und dann auch geringgradiger - gehemmt.

Eine pH-Wert-bedingte Hemmung (pH-Werte der Extrakte zwischen 5 und 6) konnte ebenso ausgeschlossen werden wie eine Hemmung durch eventuelle Rückstände der Extraktionsmittel (Blindversuche). Die ermittelten Befunde sind in Tab. 18 dargestellt (nicht jede Charge wurde mit allen Testkeimen geprüft).

Die Prüfung der Maissilage-Extrakte auf antibakterielle Wirkung (nur auf Hemmstoffplatten mit *B. subtilis* BGA als Testkeim, pH 6 und 8) erbrachte nur bei der Charge mit der höchsten Gesamtkeimzahl (SI 2) eine geringe Hemmung von 1 mm (Platte mit pH 8); der Extrakt der Charge SI 3 reagierte ebenso negativ wie beide Silagen nach direktem Aufbringen auf die Hemmstoffplatten (Tab. 18).

3.2.1.1. Versuche zur Identifizierung dieser positiven Hemmstoffreaktionen

Da Zinkbacitracin (ZNB) als zugelassener nutritiver Stoff in Legehennenfutter auch im Kot vermutet werden konnte, wurde die Identifizierung zunächst auf diese Substanz ausgerichtet. Als minimale Hemmkonzentration wurden 0.2 mcg ZNB/ml gegenüber *Mc. flavus* in einem besonderen Versuch ermittelt.

Die Überprüfung der Stabilität von ZNB ergab im nativen Kot eine Wiederfindungsrate von 10.6 %, im Trockenkot von 3.1 %. Die im Versuch zugesetzte Menge betrug 1 mg/10 g Frischkot, entsprechend der erlaubten maximalen Zusatzmenge für Legehennenfutter. Das zugesetzte ZNB bewirkte starke Hemmreaktionen bei *Mc. flavus* und *Mc. luteus* (10 bis 11 mm). Die

Tab. 18

Hemmstofftest in Anlehnung an Anlage 4 AB.A^{x)} zum F1BG mit den verfütterten Legehennentrockenkot (TK)- und Maissilage (SI)-Chargen: Nativ, sowie nach Extraktion und Konzentration

Mastversuch Charge	Proben- aufbereitung	Hemmhöfe ^{o)} in mm auf Platten mit					
		B. subtilis BGA		Mc. luteus ATCC 9341		Mc. flavus ATCC 10240	
		pH 6	pH 8	pH 6.5	pH 8	pH 6.5	pH 8
A	[TK] 1 ⁺⁾	H ₂ O	-	-			
		Acetonitril	1	-	4	-	2
	2	H ₂ O	-	-			
		Acetonitril	3	-	2	-	2
		Methanol	3			4	3
	4	H ₂ O	-	-			
		Acetonitril	3	1	2	-	3
		Methanol	1			4	3
	B 5	H ₂ O	-	-			
		Methanol	4	3			
A	[SI] 2	nativ	-	-			
		Acetonitril		1			
B	3	nativ	-	-			
		Methanol	-	-			

H₂O: Wäßrige Aufschwemmung;

Acetonitril, Methanol: Extraktion und Konzentration 1 auf 2.5;

TK 1,2,4,5: Trockenkötchergen; SI 2,3: Maissilagechergen;

- = negatives Ergebnis; leere Felder = nicht untersucht;

+) = Pellets

o) = die Hemmzonen der Parallelansätze waren überwiegend identisch, bei Differenzen wurde der kleinere Hemmhof gewertet

x) = Ausführungsbestimmungen A zum Fleischbeschaugesetz (F1BG)

Restaktivität von ca. 3 % im Trockenkot reichte aus, um *Mc. flavus* noch mit einer 9 mm Zone zu hemmen, *Mc. luteus* zeigte 7 mm Hemmzone. *B. subtilis* BGA reagierte hingegen nur mit zweifelhaften Reaktionen (1 bis 1.5 mm) vor und nach der Kottrocknung, ohne und mit ZNB-Zusatz.

Die Verwendung von autoklaviertem Frischkot für die Einmischung von ZNB sollte den Einfluß der Kotmikroflora auf die Ausbildung von Hemmhöfen aufzeigen bzw. ausschalten. Bei nicht autoklaviertem Trockenkot waren die Hemmhöfe bei Verwendung von *Mc. luteus* und *Mc. flavus*, im Vergleich zu autoklaviertem Trockenkot, um 1 bis 2 mm größer; für die Differenz scheinen Stoffwechselprodukte der Kotmikroflora verantwortlich zu sein (Tab. 19).

Vergleicht man die Hemmreaktionen der 3 Testkeime, die mit den Extrakten der verfütterten Trockenkotchargen erzielt wurden, mit denen, die mit Trockenkot + ZNB-Zusatz auftraten, so fallen die unterschiedlichen Reaktionen der 3 Teststämme auf. Die annähernd gleich stark ausgeprägte Hemmung der Testkeime *B. subtilis* BGA, *Mc. luteus* und *Mc. flavus* durch Trockenkotextrakte sprach gegen die Anwesenheit von ZNB-Resten im Trockenkot, da selbst bei einer nur geringen Restaktivität dieser Substanz nach der Kottrocknung *Mc. luteus* und *Mc. flavus* deutlich stärker hätten gehemmt werden müssen als *B. subtilis* BGA.

Flavomycinrückstände im Kot waren bereits aufgrund der meist negativen Reaktionen auf pH 8-Hemmstoffplatten auszuschließen, da die Empfindlichkeit aller verwendeten Testkeime gegenüber Flavomycin bei pH 8 größer ist als bei pH 6.

Versuche zur Identifizierung der antibakteriellen Substanzen im Legehennentrockenkot mittels Dünnschichtchromatographie ergaben, daß die Hemmstoffe mit den als Standards verwendeten Antibiotika Zinkbacitracin, Flavomycin, Tetracyclin, Oxytetracyclin und Chlortetracyclin nicht identisch waren.

Aus diesen Befunden kann geschlossen werden, daß die in Legehennentrockenkot feststellbare antibakterielle Aktivität nicht auf eventuell mit dem Futter zugeführte, zugelassene Antibiotika zurückzuführen ist. Die Vermutung, daß bestimmte Bazillenstämme im Legehennentrockenkot keimhemmende Stoffwechselprodukte bilden und damit für die antimikrobielle Aktivität der Kotextrakte verantwortlich sind, konnte bestätigt werden (s. 3.1.4.3.).

Tab. 19

Antibakterielle Reaktionen im Agardiffusions-Hemmstofftest durch frischen und getrockneten Legehennenkot und nach experimenteller Zugabe von 1 mg Zinkbacitracin (ZNB)/10 g Frischkot, nach Extraktion

Chargen	Behandlung x)	Hemmhöfe in mm auf Platten mit					
		B. subtilis pH:6		Mc. luteus 6.5		Mc. flavus 6.5	
Frischkot	Trocknung ^{o)}	2		2		5	3
		1.5	1	(2)	-	(2)	(2)
Frischkot autokl.+)	Trocknung	1	0.5	2	(1)	(2)	(1)
		2	1	2	-	(2)	(1)
Frischkot + ZNB	Trocknung	1.5	1	10	7	10	9
		1.5	1	7	4	9	6
Frischkot autokl. + ZNB	Trocknung	1.5	1	11	7	10	9
		2	1	6	3	7	6
ZNB-Lsg.	100°C, 1 h	3	2.5	13	9	12	11.5
		3	2.5	12	8	11	10.5

x) alle Chargen wurden zwecks Simulierung physiologischer Vorgänge 6 h bei 40° C nach Versuchsansatz gehalten

o) die Trocknung erfolgte bei 150° C für 1 h im Trockenschrank

+) das Autoklavieren erfolgte bei 120° C für 30'

() = Testkeimwachstum nur reduziert

3.2.2. Befunde beim Hemmstofftest gemäß Anlage 4 AB.A zum F1BG mit Muskel- und Organproben der Mastrinder

Fütterungsversuch A:

Es zeigte sich überraschenderweise bei 28 % der hauptsächlich von Versuchstieren stammenden Muskelproben ein vermindertes oder fehlendes Wachstum von B. subtilis BGA auf den Plattenoberflächen. Zur Ausbildung eines klaren Hemmhofes (Hemmung des Testkeimes auch im Agar) kam es jedoch in keinem Fall. Demgegenüber waren die Nieren- und Leberproben sämtlich negativ. Die "positiven" Muskelbefunde konnten bei den 19 Versuchstieren in 7 Fällen (= 37 %) und bei den 10 Kontrolltieren in einem

Fall (= 10 %) erhoben werden (Tab. 20).

Tab. 20

Anzahl der positiven Proben beim Hemmstofftest nach Anlage 4 AB.A
zum FIBG mit frischen Gewebeproben (Fütterungsversuch A)

Tiermaterial	Proben	B. subtilis BGA		Σn
		pH 6	pH 8	
Versuchstiere n = 19	Muskul.	3	6	7
	Leber	-	-	-
	Niere	-	-	-
Kontrolltiere n = 10	Muskul.	1	1	1
	Leber	-	-	-
	Niere	-	-	-

positiv = Hemmhof ≥ 2 mm auf Plattenoberfläche

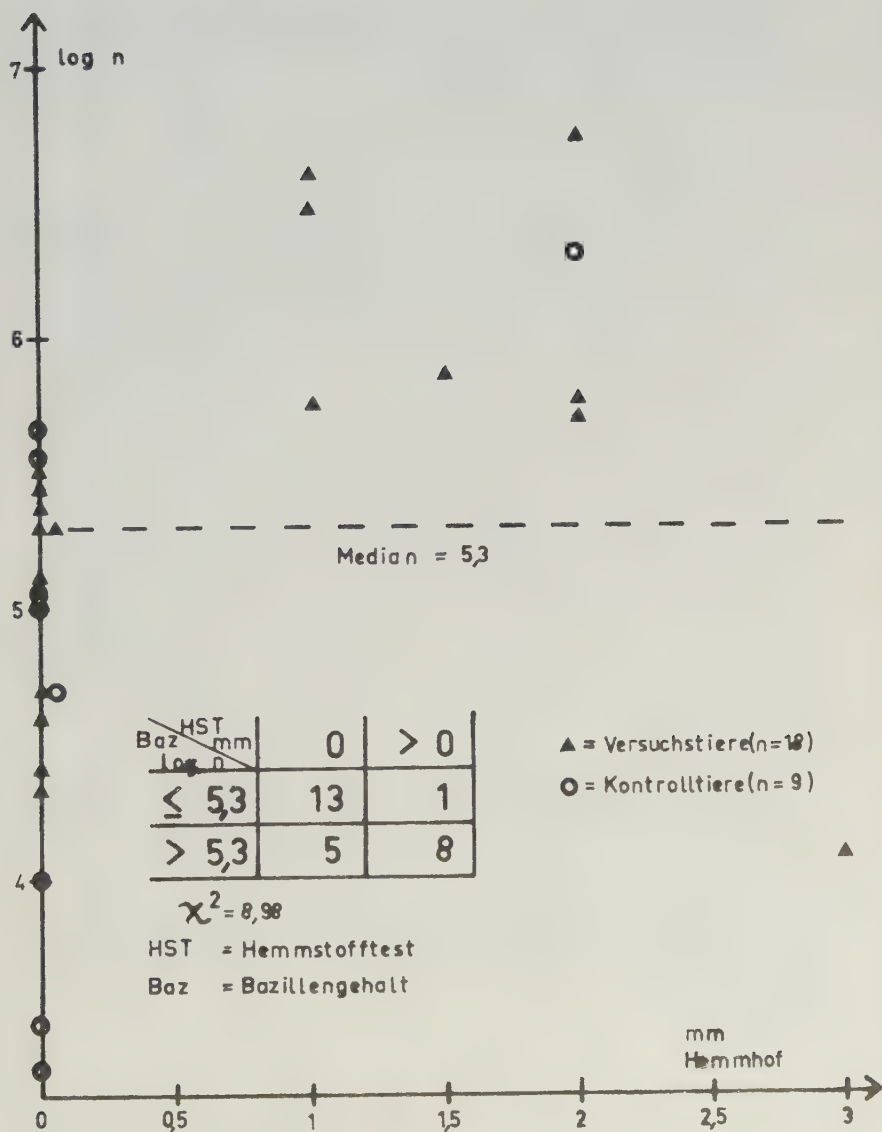
Muskul. = Muskulatur (Vordergliedmaße)

Da eine therapeutische Applikation von Antibiotika sowie Antibiotikarückstände aus Legehennentrockenkot ausgeschlossen werden konnten, mußten die Resultate als sogenannte unspezifische Hemmungen gewertet werden.

Es wurde ein Zusammenhang zwischen den antibakteriellen Stoffwechselaktivitäten von aus Legehennentrockenkot stammenden Bazillenstämmen und diesen unspezifischen Reaktionen des B. subtilis BGA vermutet. Deshalb wurde der Bazillengehalt des Pansens der einzelnen Tiere gegen die Hemmhöfe der Muskelproben in mm aufgetragen (Abb. 3). Sowohl Versuchstiere als auch Kontrolltiere mit einem Bazillengehalt bis maximal log 5.7 bewirkten, bis auf eine Ausnahme, keine Hemmung des Testkeimes B. subtilis BGA. Über dieser kritischen Schwelle traten Hemmhöfe zwischen 1 und 2 mm auf. Eine lineare Korrelation war statistisch nicht abzusichern, wohl aber eine qualitative Aussage über eine bestehende Abhängigkeit zwischen den beiden Größen Bazillengehalt Pansen und positiver oder negativer Hemmstofftest. Die Keimzahlen wurden mit Hilfe des

Abb. 3

BAC. SUBTILIS-HEMMHOFRINGE DURCH FRISCHE MUSKELPROBEN IN
ABHÄNGIGKEIT VOM BAZILLENGEHALT DES PANSENS



Median in 2 Gruppen eingeteilt, um den Abhängigkeitsfaktor χ^2 berechnen zu können. Der Wert für χ^2 betrug 8.98. Ist χ^2 größer als 3.84, so liegt mit $\alpha = 0.05$ eine signifikante Abhängigkeit der beiden Größen vor.

Fütterungsversuch B:

Die Hemmstofftests mit Muskel- und Nierenproben der 14 Mastbullen erbrachten in allen Fällen ein negatives Ergebnis und bestätigten somit die Befunde von Mastversuch A nicht.

3.2.3. Hemmstofftest-Befunde mit Muskel- und Organextrakten

Fütterungsversuch A:

Tab. 21 zeigt die Hemmwirkungen der Gewebeextrakte in mm. Die meisten positiven Ergebnisse waren wieder bei Muskulatur und hier besonders auf Platten mit pH 6 und 6.5 zu verzeichnen. B. subtilis BGA wurde von 8 von 15 (= 53 %) Versuchstier-Muskelextrakten und von 2 von 8 (= 25 %) Kontrolltier-Muskelextrakten gehemmt. Mc. flavus wurde von der Mehrzahl sowohl der Versuchs-, als auch der Kontrolltier-Muskelextrakte gehemmt und zwar vor allem auf Platten mit pH 6.5. Der pH-Wert der Extrakte lag zwischen 4.5 und 5. Die Hemmung von Mc. luteus entsprach etwa dem Bild bei B. subtilis BGA: 6 von 13 (=46 %) Versuchstierextrakten und 1 von 6 (= 17 %) Kontrolltierextrakten waren hemmaktiv.

Die Leberextrakte wiesen auf den B. subtilis BGA-Platten in einem Abstand von 14 bis 16 mm vom Rand der Ausstanzung fast immer "Hemmkreise" auf, das Keimwachstum war jedoch meist in der Koloniezahl nur reduziert. Nierenextrakte vermochten lediglich in einigen Fällen Mc. flavus zu hemmen.

Die dünnschichtchromatographische Charakterisierung der unspezifischen Hemmstoffe aus 10 Muskelextrakten (6 Versuchs- und 4 Kontrolltiere) ergab identische Rf-Werte. Das sprach für eine einheitliche, sowohl in Versuchs- als auch in Kontrolltiermuskulatur vorkommende Substanz. Ein Vergleich mit den Rf-Werten von Zinkbacitracin und Flavomycin ergab keine Übereinstimmung, so daß auch hier, wie bereits beim Trockenkot, Rückstände von Legehennenfutter-Zusatzstoffen ausgeschlossen werden konnten.

Agardiffusions-Hemmstofftest mit extrahierten Gewebeproben (Fütterungsversuch A)

Angabe Hemmhoefring im Agar in mm

	Extrakt aus	B. subtilis BGA			Mc. flavus ATCC 10240			Sarc. lutea ^{x)} ATCC 9341		
		pH 6	pH 8	Σn	pH 6,5	pH 8	Σn	pH 6,5	pH 8	Σn
Versuchstiere n = 15	Musk.	2,3,2,4 5,4,6,5	1,1,1	8	6, 2,8,4 8,13,7,9 9,9,6	3,2,2	11	5,6,6,8 10,5	2	6
	Leber	14, 15	16	2	2,2,4,3 5,4,3		7			
	Niere				2,3,3,2 3	3	5			
Kontrolltiere n = 8	Musk.	2,4		2	5,6,10,3 4,2	4	6	5		1
	Leber ^{xx)}	16		1	3		1			
	Niere				3,2,3		3			

xx) n = 5 Versuchstiere: n = 13
Kontrolltiere: n = 6

pH-Werte der Extrakte: 4,5 - 5

Ein mögliches Carry-over von Mykotoxinen aus Legehennentrockenkot oder Maissilage als Ursache für die positiven Hemmstoffreaktionen konnte ebenfalls ausgeschlossen werden. Die Untersuchung der Legehennentrockenkot-Charge TK 4 und der Maissilage-Charge SI 2 (Fütterungsversuch A) auf die Mykotoxine Ochratoxin A, Aflatoxin B₁, B₂, G₁ und G₂, Sterigmatocystin, T-2, DAS und Zearalenon erbrachte ein negatives Ergebnis (LEIBETSEDER, 1981).

Fütterungsversuch B:

Es wurden nur *B. subtilis* BGA-Hemmstoffplatten mit pH 6 und 8 verwendet. Alle Muskelextrakte verursachten mit Ausnahme eines Versuchs- und eines Kontrolltieres auf den Platten mit pH 6 Hemmzonen von 1 bis 2 mm. Die pH-Werte dieser Extrakte lagen zwischen 4.8 und 5.0; die beiden den *B. subtilis* BGA nicht hemmenden Extrakte wiesen pH-Werte von 5.5 und 5.6 auf. Die Hemmwirkungen traten auch jenseits einer semipermeablen Membran auf. Auf Platten mit pH 8 wurde der Testkeim nicht gehemmt. Die Nierenextrakte (pH-Werte 6.3 bis 6.5) zeigten durchweg negative Ergebnisse.

3.2.4. Schwermetallrückstände im Legehennentrockenkot

Die Rückstände von Arsen, Blei und Cadmium in einer Mischprobe aus den bei Fütterungsversuch A eingesetzten Chargen sowie in der bei Mastversuch B verfütterten Charge sind in Tab. 22 aufgeführt. Der Bleigehalt liegt in Charge Nr. 5 mit 22 mg/kg verhältnismäßig hoch. Die bei allen Chargen bestimmten Kupfergehalte zeigten nur geringe Schwankungen und lagen mit 65.2 mg/kg im Mittel ebenfalls recht hoch.

Tab. 22

Schwermetallgehalte in den verfütterten Legehennentrockenkot-Chargen
(mg/kg)

(Ergebnisse der LUFA Kiel vom Juni 1983)

Mastversuch Charge Nr.	Kupfer	Arsen	Blei	Cadmium
A TK 1 ^{o)}	62	x) 1.1	1.3	0.09
" 2	61			
" 3	67			
" 4	65			
B " 5	71	1.2	22	0.1

o) Pellets

x) Mischprobe aus den bei Mastversuch A verfütterten Chargen

3.3. Substantielle Beschaffenheit der Schlachttierkörper und der Organe

3.3.1. Allgemeine Fleischqualitätsparameter (pH-Wert, Rigor, Wasserbindungsvermögen)

Fütterungsversuch B:

Die pH-Werte (Mittelwerte) von Versuchs- und Kontrolltieren der 3 untersuchten Muskeln waren sowohl 1 Stunde p.m. als auch während der Fleischreifung bei beiden Gruppen annähernd gleich (Tab. 23). Die pH_1 -Mittelwerte von Versuchs- und Kontrollgruppe waren 6.76 mit $s = 0.15$ bzw. 6.74 mit $s = 0.18$ für den M. adductor, 6.84 mit $s = 0.10$ bzw. 6.85 mit $s = 0.16$ für den M. longissimus dorsi und 6.75 mit $s = 0.19$ bzw. 6.79 mit $s = 0.30$ für den M. semitendinosus. Die pH_{24} -Mittelwerte von Versuchs- und Kontrollgruppe betrugen 5.56 mit $s = 0.12$ bzw. 5.59 mit $s = 0.16$ für den M. adductor, 5.73 mit $s = 0.21$ bzw. 5.74 mit $s = 0.20$ für den M. longissimus dorsi und 5.59 mit $s = 0.31$ bzw. 5.61 mit $s = 0.10$ für den M. semitendinosus. Alle Mittelwerte beider Gruppen befanden sich im Normalbereich.

Im weiteren Verlauf der Fleischreifung kam es bei einem Versuchstier im M. semitendinosus (Tab. 23, Tier Nr. 5) 48 Stunden p.m. erneut zu einem Anstieg des pH-Wertes auf 6.31, jedoch bis zum 5. Tag p.m. wieder zum Absinken auf 5.50. Ein weiteres Versuchstier (Tab. 23, Tier Nr. 9) wies eine insgesamt ungenügende Fleischreifung auf: Im M. semitendinosus wurde ein 24-Stunden-Wert von 6.40 gemessen, dieser Wert blieb konstant bis 72 Stunden p.m. und erhöhte sich 96 Stunden p.m. noch leicht auf 6.45. Der Verlauf der pH-Mittelwerte von einer Stunde bis 144 Stunden p.m. für Versuchs- und Kontrolltiere ist in Abb. 4 dargestellt.

Die Rigor-Mittelwerte der Versuchs- und Kontrolltiere waren bei den 3 untersuchten Muskeln 1 und 24 Stunden p.m. bei beiden Gruppen etwa gleich und lagen im Normalbereich (Tab. 24). Am schlachtwarmen Querschnitt des M. longissimus dorsi ließ sich kein Rigor bestimmen.

Auch beim locker gebundenen, auspreßbaren Wasser zeigte sich bei Betrachtung der Mittelwerte von Versuchs- und Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied (Tab. 24). Die Q_1 -Mittelwerte von Versuchs- und Kontrollgruppe waren 0.41 mit $s = 0.05$ bzw. 0.45 mit $s = 0.05$ für den M. adductor, 0.46 mit $s = 0.04$ bzw. 0.46 mit $s = 0.05$ für den M. lon-

Tab. 23

pH-Werte der Mastbullen von Fütterungsversuch B

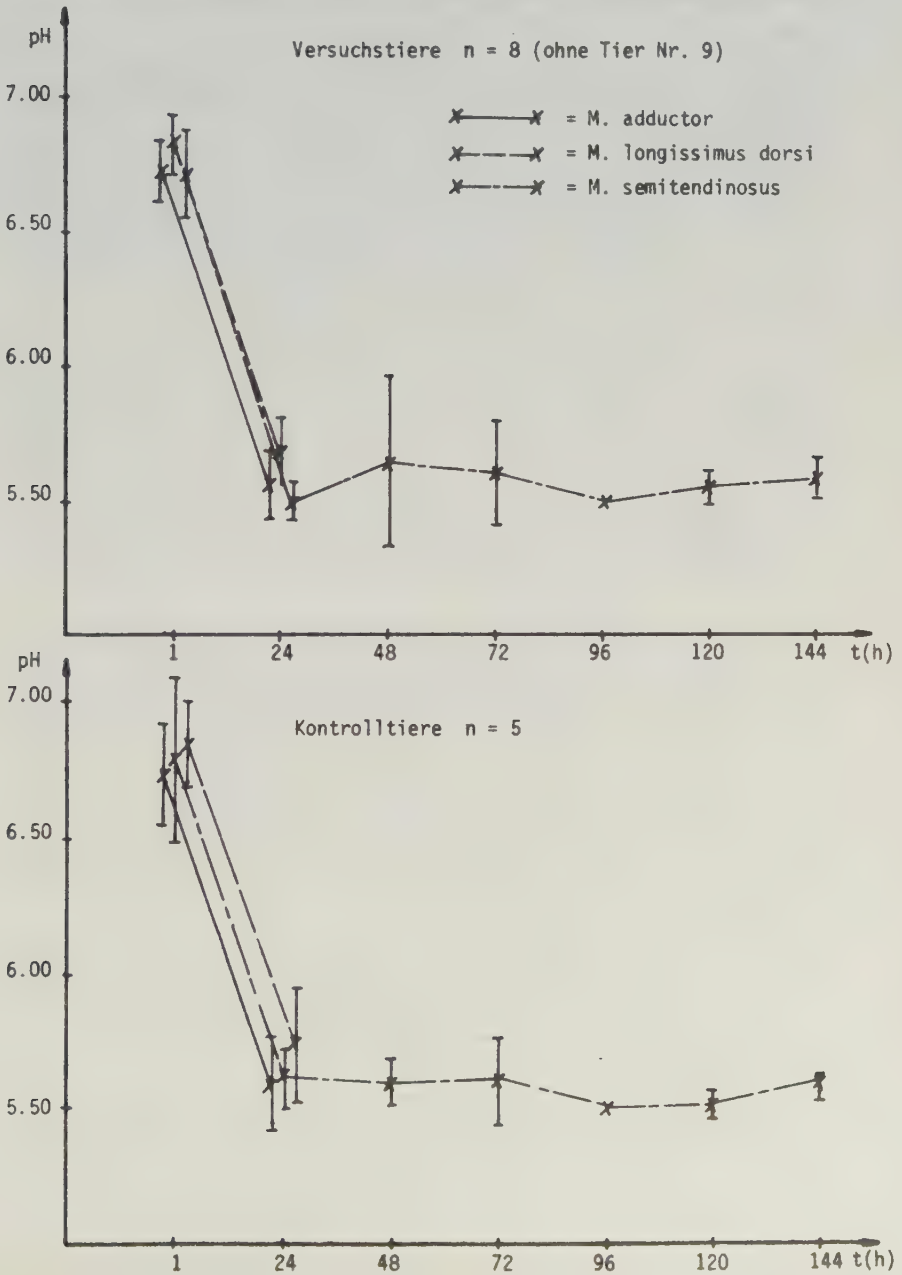
Mast- gruppe		Meßstellen											
		M. adductor		M. long. dorsi		M. semitendinosus							
Tier Nr.	h p.m.	1	24	1	24	1	24	48	72	96	120	144	
IV	2	6.64	5.53	6.97	5.70	6.39	5.44	5.41	5.58		5.54	5.56	
	3	6.62	5.80	6.68	5.57	6.76	5.49	5.55	5.57		5.59	5.65	
	4	6.69	5.45	6.90	5.57	6.70	5.57	5.92	5.61		5.53	5.61	
	5	6.63	5.56	6.85	5.66	6.72	5.58	6.31	6.05		5.50	5.51	
	8	6.80	5.70	6.85	5.80	6.83	5.40	5.40	5.50		5.50		
	9 x)	7.07	5.60	6.95	6.20	7.07	6.40	6.40	6.40	6.45			
	10	6.67	5.50	6.86	5.70	6.83	5.40	5.50	5.50	5.50			
	12	6.80	5.40	6.70	5.50	6.90	5.50	5.50	5.50	5.50			
	13	6.93	5.50	6.80	5.90	6.58	5.50	5.50	5.50	5.50			
	$\bar{x}$	6.76	5.56	6.84	5.73	6.75	5.59	5.72	5.69	5.69	5.54	5.58	
V (Ko)	s	0.15	0.12	0.10	0.21	0.19	0.31	0.39	0.32	0.42	0.04	0.06	
	1	6.76	5.56	6.57	5.71	6.35	5.45	5.65	5.87		5.47	5.52	
	6	6.61	5.43	6.86	5.55	6.71	5.68	5.68	5.61		5.53	5.71	
	7	6.51	5.45	6.96	5.55	6.72	5.71	5.60	5.54		5.52	5.54	
	11	6.83	5.80	6.90	5.90	7.13	5.60	5.50	5.50	5.50			
	14	6.98	5.70	6.95	6.00	7.03	5.60	5.50	5.50	5.50			
	$\bar{x}$	6.74	5.59	6.85	5.74	6.79	5.61	5.59	5.60	5.50	5.51	5.59	
	s	0.18	0.16	0.16	0.20	0.30	0.10	0.08	0.16	0.00	0.03	0.10	

x) Tier Nr. 9 erkrankt (Leberabszesse, Bakteriämie)

h p.m. = Stunden post mortem

Abb. 4

pH-Wert-Verlauf ($\bar{x}$, s) in 3 verschiedenen Muskeln (Fütterungsversuch B)



Tab. 24

pH-, Rigor- und Q-Werte (Wasserbindungsvermögen) der Mastgruppen IV und V (Ko) des Fütterungsversuches B (Mittelwert $\bar{x}_a$, Standardabweichung)

Meß- größe Mastgruppe	h p.m.	Meßstellen							
		M. adductor		M. long.dorsi		M. semitendinosus			
		1	24	1	24	1	24	48	72
pH	IV	6.76 0.15	5.56 0.12	6.84 0.10	5.73 0.21	6.75 0.19	5.59 0.31	5.72 0.39	5.69 0.32
	V (Ko)	6.74 0.18	5.59 0.16	6.85 0.16	5.74 0.20	6.79 0.30	5.61 0.10	5.59 0.08	5.60 0.16
Rigor mm	IV	4.8 3.6	10.7 1.7		11.6 2.4	4.8 2.9	11.8 2.2		
	V (Ko)	5.0 3.7	10.8 1.3		10.0 1.9	4.6 2.9	10.5 0.7		
Wasser- bindungs- vermögen Q = f/F	IV	0.41 0.05	0.40 0.03	0.46 0.04	0.44 0.04	0.39 0.05	0.42 0.05	0.37 0.03	0.42 0.05
	V (Ko)	0.45 0.05	0.41 0.03	0.46 0.05	0.44 0.04	0.39 0.00	0.42 0.04	0.41 0.01	0.47 0.01

Mastgruppe IV : n = 9

f = Fleischfläche F = Gesamtfläche

Mastgruppe V : n = 5

h p.m. = Stunden post mortem

gissimus dorsi und 0.39 mit s = 0.05 für den M. semitendinosus bei beiden Gruppen. Die Q_{24} -Mittelwerte von Versuchs- und Kontrollgruppe betragen 0.40 mit s = 0.03 bzw. 0.41 mit s = 0.03 für den M. adductor, 0.44 mit s = 0.04 bei beiden Gruppen für den M. longissimus dorsi und 0.42 mit s = 0.05 bzw. 0.42 mit s = 0.04 für den M. semitendinosus. Im allgemeinen war auf Grund der eingetretenen Fleischreifung Q_{24} kleiner als Q_1 . Die Werte bewegten sich im Normalbereich, d.h. die Muskulatur tendierte weder zu Wäbrigkeit (PSE-Charakter) noch zu trockener Beschaffenheit (DFD-Charakter).

3.3.2. Gesamtwassergehalt und intramuskulärer Fettgehalt der Mm. adductor, longissimus dorsi und psoas major (Fütterungsversuch A)

Gesamtwassergehalt:

Der Gesamtwassergehalt der wertbestimmenden Teilstücke der Schlachttierkörper - Keule, Roastbeef und Filet - war im Mittel bei Versuchs- und Kontrolltieren etwa gleich, es bestanden keine signifikanten Unterschiede ($\alpha = 0.05$).

Die Mm. adductor und psoas major wiesen bei allen Mastgruppen im Mittel einen Wassergehalt von 75 bis 76 % auf, der M. longissimus dorsi lag mit 73 bis 74 % etwas niedriger (Tab. 25).

Fettgehalt:

Auch die Mittelwerte der intramuskulären Fettgehalte von Versuchs- und Kontrolltieren variierten bei den 3 Gruppen nur gering (Tab. 25). Die Werte lagen bei den 3 Mastgruppen für den M. adductor zwischen 1.74 und 1.90 % Fett in der Frischsubstanz mit $s = 0.66$, für den M. psoas major zwischen 2.27 und 2.46 % Fett mit $s = 1.13$ und für den stärker marmorierten M. longissimus dorsi zwischen 3.90 und 4.47 % Fett mit $s = 1.75$. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($\alpha = 0.05$).

Tab. 25

Gesamtwassergehalt und intramuskulärer Fettgehalt von Muskulatur der Mastgruppen I (Kontrollen), II und III des Fütterungsversuches A
(% der Frischsubstanz, $\bar{x}_a$, Standardabweichung)

	Mast- gruppe	M. adductor	M. long. dorsi	M. psoas major
H ₂ O	I (Ko)	75.20 0.78	73.52 1.23	76.31 0.72
	II	75.61 0.36	73.88 1.47	75.80 0.87
	III	75.86 0.93	73.54 1.34	75.67 0.67
Fett	I (Ko)	1.90 0.59	4.47 1.55	2.27 0.73
	II	1.81 0.40	4.17 1.75	2.46 0.82
	III	1.74 0.66	3.90 1.55	2.41 1.13

3.3.3. Ergebnisse der sensorischen Tests (Fütterungsversuch A)

3.3.3.1. Triangeltest

Bei den roh zu beurteilenden Proben wurde beim Roastbeef in 5 und beim Filet in 4 von insgesamt 8 Prüfdurchläufen ein signifikanter Unterschied ($\alpha = 0.05$) zwischen Versuchs- und Kontrolltieren festgestellt.

Bei den gegarten Proben wurde bei Roastbeef und Filet jeweils in 2 von 8 Durchläufen ein signifikanter Unterschied ($\alpha = 0.05$) zwischen Versuchs- und Kontrolltieren gefunden (Tab. 26). Die Unterscheidung beinhaltete keine Wertung und keine Identifizierung des Versuchs- bzw. Kontrolltieres.

Die bei etwa der Hälfte der Prüfungen möglich gewesene Unterscheidung der rohen Proben beruhte offensichtlich nicht auf Unterschieden, verursacht durch Legehennentrockenot-Fütterung, sondern war durch nicht ganz auszuschaltende strukturelle, äußerliche Gemeinsamkeiten bei zwei Fleischscheiben desselben Muskelstranges, etwa hinsichtlich der Marmorierung, gegeben.

Berücksichtigt man deshalb nur das Ergebnis, das die gegarten Proben brachten, so war im allgemeinen zwischen Versuchs- und Kontrolltieren sensorisch kein Unterschied feststellbar.

Tab. 26

Sensorische Prüfung (Triangeltest) von gegarten Roastbeef- und Filet-Proben der Mastbullen des Fütterungsversuches A

Test Nr.	Anzahl		
	Urteile (Prüfer)	richtige Antworten ^{x)}	
		Roastbeef	Filet
1	10	5	4
2	9	4	4
3	9	1	2
4	9	4	4
5	7	5 ⁺	1
6	7	4	5 ⁺
7	9	6 ⁺	2
8	9	2	7 ⁺

^{x)} Versuchs- und Kontrolltier konnten unterschieden werden

+ = signifikanter Unterschied ($\alpha = 0.05$)

3.3.3.2. Bewertende Prüfung

Die Auswertung der bewertenden Prüfung zielte darauf ab, eventuell doch bestehende Unterschiede, die jedoch nur von sensorisch besonders befähigten Prüfern erkannt wurden, näher zu charakterisieren. Dazu wurden die Wertungen der Prüfer mit richtigem Triangeltest für jedes einzelne Kriterium graphisch dargestellt, indem die relative Häufigkeit der einzelnen Bewertungspunkte bei Versuchs- und Kontrolltieren verglichen wurde.

Generell konnte festgestellt werden, daß die Punktzahl 3 (d.h. die negative Bewertung) fast immer bei Kontrolltieren häufiger vergeben wurde. Bei keinem der geprüften Kriterien fand sich bei den Versuchstieren im Vergleich zu den Kontrolltieren eine merkliche Häufung negativer Bewertungen.

Von den einzelnen Kriterien interessierten vor allem Geruch und Geschmack (Abb. 5, 6). Hier konnte weder in rohem noch in gegartem Zustand bei Roastbeef oder Filet eine Beeinträchtigung durch die Trockenkot-Fütterung festgestellt werden. Vielmehr übertrafen die Versuchstiere die Kontrolltiere meist in der Häufigkeit der Bewertung "vollaromatisch" (Punktzahl 1) und "aromatisch" (Punktzahl 2). "Ausdrucksloser" (Punktzahl 3) Geruch oder Geschmack wurde häufiger bei Kontrolltieren festgestellt. Geruchsdifferenzen traten bei den gegarten Proben offensichtlich deutlicher hervor als bei rohem Fleisch. So wurden mit 19 % (Roastbeef) und 27 % (Filet) der Urteile merklich öfter Kontrolltierproben als "ausdruckslos" oder "mit Fremdgeruch behaftet" bezeichnet als Versuchstierproben mit 5 % (Roastbeef) und 6 % (Filet) (Abb. 5).

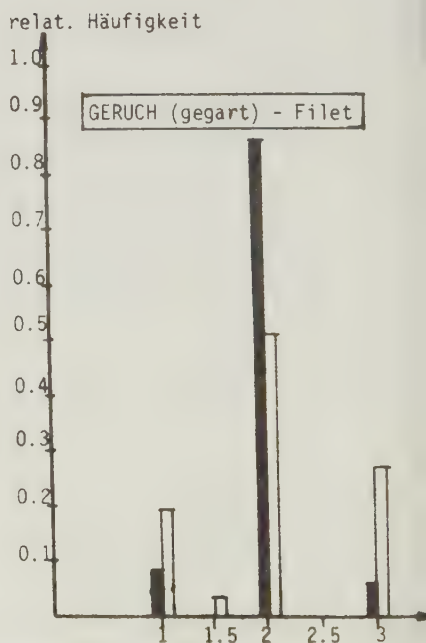
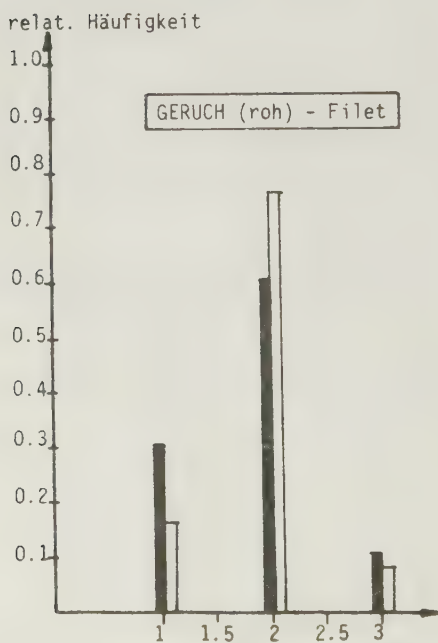
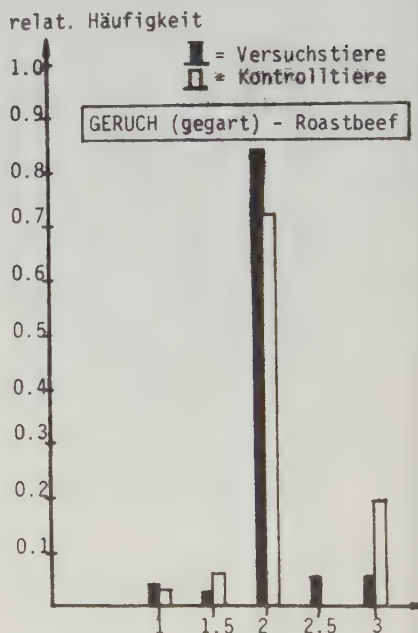
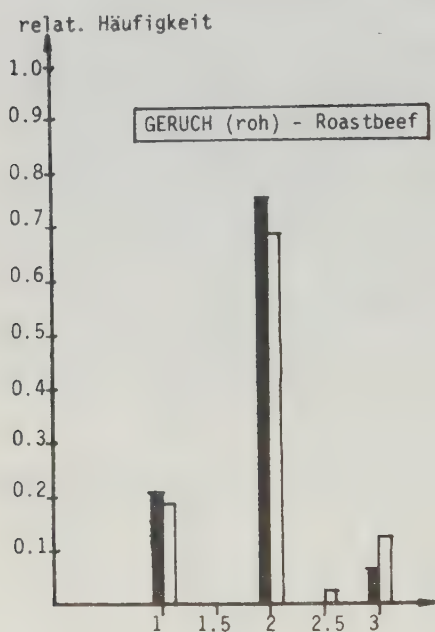
Bei der Geschmacksbewertung lauteten 17 % (Roastbeef) und 16 % (Filet) der Urteile für Kontrolltierproben auf "ausdruckslos oder Fremdgeschmack" im Gegensatz zu 9 % (Roastbeef) und 6 % (Filet) für die Versuchstierproben. Auffällig war weiterhin, daß 20 % der Bewertungen die Versuchstier-Filetproben, aber nur 3 % die Kontrolltier-Filetproben als "vollaromatisch" im Geschmack bezeichneten (Abb. 6).

Auch die Konsistenz und Saftigkeit des Fleisches schien durch die Trockenkot-Fütterung eher positiv beeinflußt worden zu sein.

Die Konsistenz der gegarten Roastbeef-Würfel wurde bei Versuchs- bzw. Kontrolltieren in 61 % bzw. 25 % der Urteile als spezifisch zart und in

Abb. 5

Sensorische Bewertung (Fütterungsversuch A)

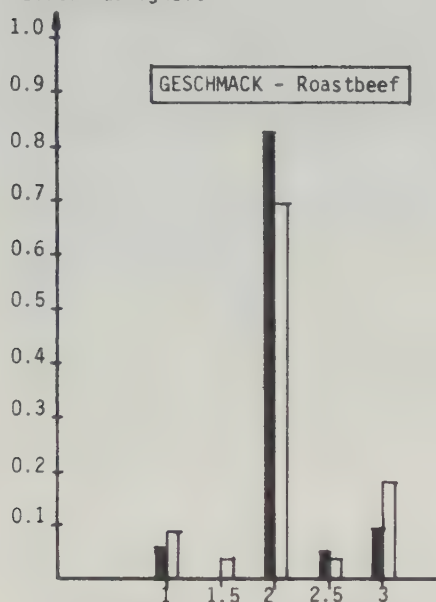


1 = vollaromatisch, 2 = aromatisch, 3 = ausdruckslos oder Fremdgeruch

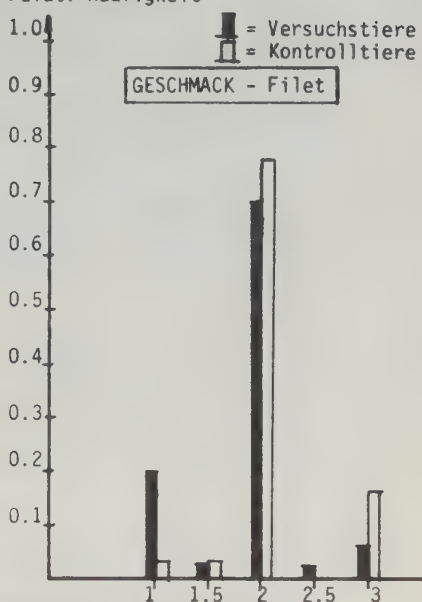
Abb. 6

Sensorische Bewertung (Fütterungsversuch A)

relat. Häufigkeit



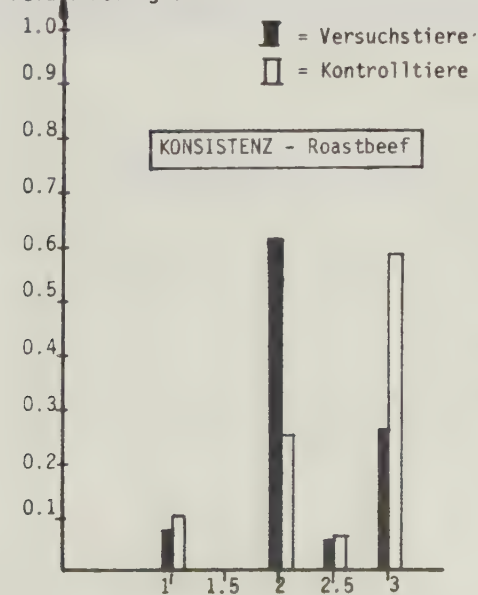
relat. Häufigkeit



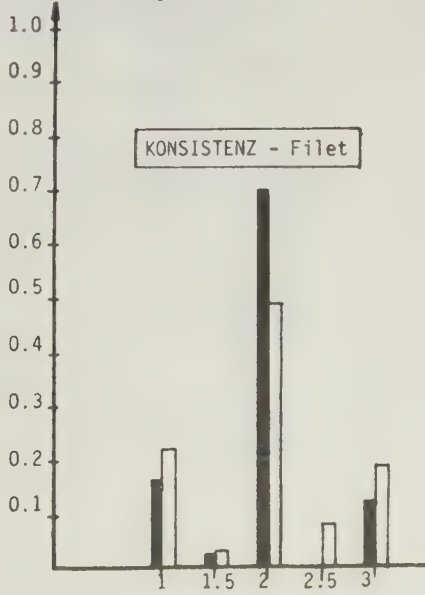
1 = vollaromatisch, 2 = aromatisch, 3 = ausdruckslos oder Fremdgeschmack

Abb. 7

relat. Häufigkeit



relat. Häufigkeit



1 = besonders zart, 2 = spezifisch zart, 3 = fest

26 % bzw. 58 % als fest bezeichnet. Die gegarten Filet-Würfel wurden bei Versuchs- bzw. Kontrolltieren in 70 % bzw. 49 % als "spezifisch zart" und in 12 % bzw. 19 % als "fest" bewertet (Abb. 7).

Bei Bewertung der Saftigkeit waren weniger große Differenzen festzustellen. Doch auch hier wurde das Urteil "trocken" öfter auf Kontrolltiere angewandt (Abb. 8).

Die Marmorierung der Versuchs- und Kontrolltierproben wurde annähernd gleich bewertet. Es zeigte sich keine Tendenz zu vermehrter oder verringelter intramuskulärer Fetteinlagerung bei den Versuchstieren (Abb. 9).

Die Beurteilung der Struktur der gegarten Muskulatur differierte beim Roastbeef bei der Bewertung "fein": Mit 21 % der Urteile erhielten deutlich mehr Versuchstier- als Kontrolltierproben mit 3 % diese Wertung. Die Struktur des Filets wurde in 2 % der Wertungen bei Versuchstieren und in 17 % der Wertungen bei Kontrolltieren als "grob" eingestuft (Abb. 10).

Die Einordnung der Farbe der rohen Muskulatur in die Kategorien "dunkelrot", "rot" und "hellrot" (Punktzahlen 1, 2, 3) erbrachte keine Tendenz zu dunklerer oder hellerer Muskelfarbe bei Versuchs- oder Kontrolltieren (Abb. 11).

3.3.4. Vergleich der Protein- und Enzymmuster von Versuchs- und Kontrolltieren

3.3.4.1. Proteinmuster der Muskulatur

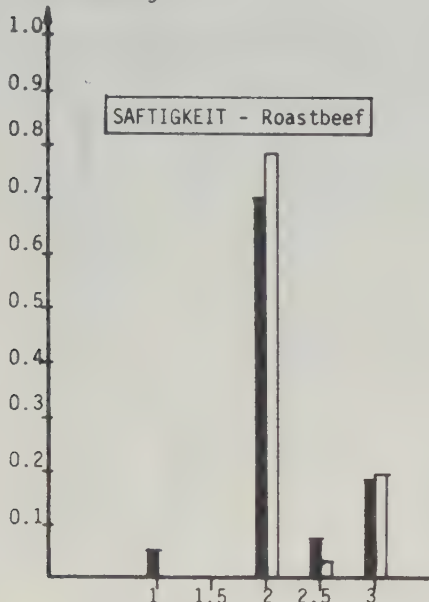
Die Darstellung der löslichen Muskelproteine von Versuchs- und Kontrolltieren mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung in Dünnschicht- (IEF) und Ultradünnschichtgelen (UDIEF) erlaubte einen, wenn auch nur vergleichenden, Einblick in den Eiweißstoffwechsel und Enzymsatz der Muskelzelle. Bei den wasserlöslichen Sarkoplasma-Proteinen handelt es sich um glykolytische Enzyme, Antikörper, Serumalbumin, Peptide und Pigmentproteine.

Die Unterscheidung Versuchstier/Kontrolltier aufgrund der Muskelproteinbanden war nicht möglich. Die Versuchstiere zeigten keine, auch nur annähernd einheitliche Abweichung in ihren Muskelproteinmustern.

Abb. 8

Sensorische Bewertung (Fütterungsversuch A)

relat. Häufigkeit



1 = besonders saftig, 2 = spezifisch saftig, 3 = trocken

relat. Häufigkeit

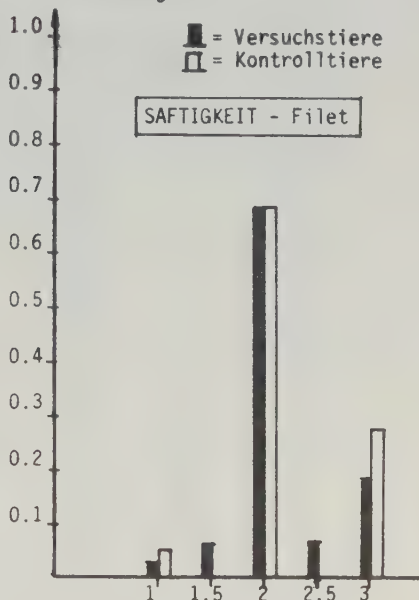
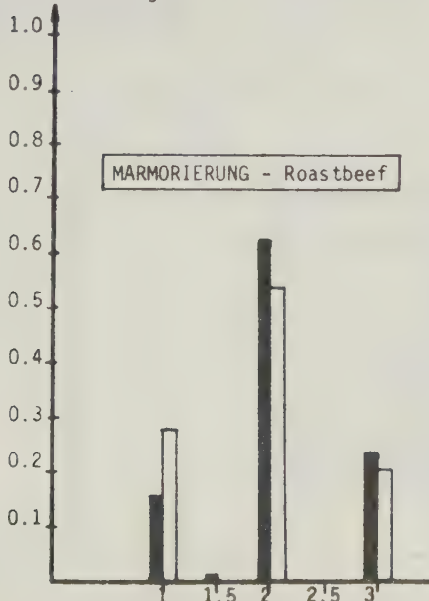


Abb. 9

relat. Häufigkeit



1 = zahlreich, 2 = durchschnittlich, 3 = gering

relat. Häufigkeit

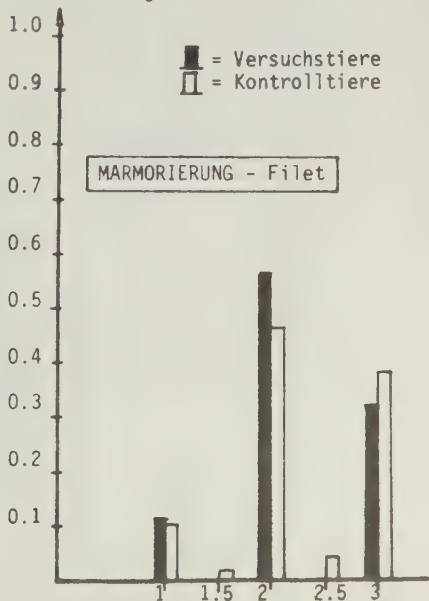
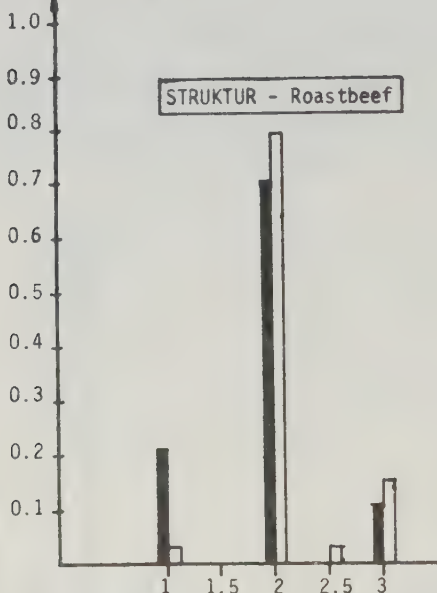


Abb. 10

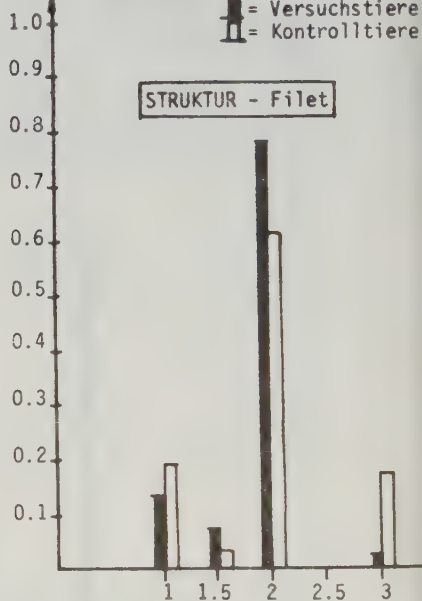
Sensorische Bewertung (Fütterungsversuch A)

relat. Häufigkeit



1 = fein, 2 = mittel, 3 = grob

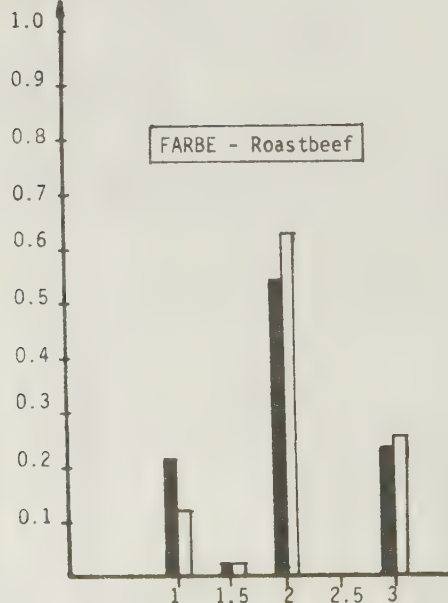
relat. Häufigkeit



■ = Versuchstiere
□ = Kontrolltiere

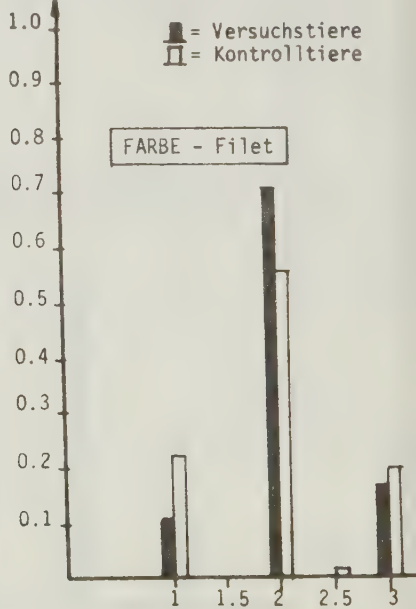
Abb. 11

relat. Häufigkeit



1 = dunkelrot, 2 = rot, 3 = hellrot

relat. Häufigkeit



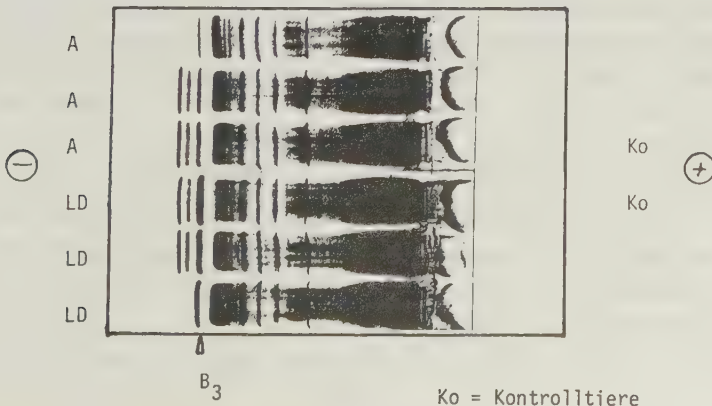
■ = Versuchstiere
□ = Kontrolltiere

Unabhängig von der Zugehörigkeit zur Versuchs- oder Kontrollgruppe traten jedoch Unterschiede im Proteinmuster zwischen einzelnen Tieren und zwischen den Mm. longissimus dorsi und adductor auf. Die optische Auswertung der mit UDIEF erhaltenen Proteinbanden erbrachte folgende Unterschiede: Die ersten beiden kathodenseitigen Banden (isoelektrische Punkte = I.P.'s der Proteine 9.6 und 9.1) waren bei 60 % aller untersuchten Muskeln deutlich vorhanden, beim Rest nicht oder nur andeutungsweise. Eine Tendenz zur Unterscheidung von Versuchs- und Kontrolltieren zeigte sich dadurch jedoch nicht; vielmehr war das Verhältnis des Vorkommens bei den beiden Tiergruppen etwa ausgeglichen. Ein verstärktes Auftreten dieser beiden Proteine war bei Adduktoren-Muskulatur festzustellen (84 %), während der M. longissimus dorsi diese Banden nur in 37 % der untersuchten Proben aufwies. Die dritte kathodenseitige Bande (= B_3 , I.P. 8.9) war in allen Fällen beim M. longissimus dorsi deutlich stärker ausgeprägt als beim M. adductor (Abb. 12).

Die Pigmentbanden (Myoglobine und Hämoglobine) wiesen zwischen den einzelnen Tieren deutliche Intensitätsunterschiede auf, jedoch ohne daß sich eine Tendenz zu vermehrtem oder vermindertem Muskel- bzw. Blutfarbstoffgehalt in der Versuchstiermuskulatur andeutete.

Abb. 12

Proteinmuster der Mm. longissimus dorsi (LD) und adductor (A)



Die Auswertung der Muskel-Pherogramme auf PAGplates pH 3.5 - 9.5 (IEF) bestätigte die Ergebnisse der UDIEF. Trotz höherer Auflösung, d.h. größerer Bandenzahl, war eine Abweichung im Proteinmuster der Muskulatur von Versuchstieren nicht feststellbar.

3.3.4.2. Proteinmuster von Pankreas, Leber, Niere und Milz (Fütterungsversuche A und B)

Die Möglichkeit, daß die Fütterung "fremder Stoffe" durch Legehennen-trockenkot Auswirkungen auf intrazelluläre Abläufe und Bestandteile hat, erschien bei den Entgiftungs- bzw. Ausscheidungsorganen Leber und Niere am wahrscheinlichsten. Auswirkungen auf Pankreas und Milz wurden ebenfalls überprüft.

Die Pherogramme der verschiedenen Organe hatten jeweils typische Muster und unterschieden sich sowohl voneinander wie auch von Muskelpherogrammen deutlich.

Die Leber-Pherogramme zeigten innerhalb einer Gruppe (Versuchs- bzw. Kontrolltiere) bei den einzelnen Tieren schon merkliche Abweichungen. Es konnten im Mittel 40 (IEF und UDIEF) Banden pro Pherogramm differenziert werden. Dabei ergaben sich keine Anhaltspunkte für eine durch die Trockenkotfütterung verursachte Veränderung im Proteinmuster der Leber. Differenzen zwischen den Pherogrammen ließen sich jedoch bereits in ungefärbtem Zustand auf den PAGplates (IEF) bei den 4 Pigmentbanden erkennen, deren Mengenverhältnis untereinander stark variierte, jedoch unabhängig von der Zugehörigkeit zu Versuchs- oder Kontrolltieren.

Die Nieren-Pherogramme unterschieden sich von den Leber-Pherogrammen durch weniger Banden im Kathodenbereich, sowie durch mehrere Proteinbanden im Anodenbereich bei pH 3.5 - 3.8. Des weiteren waren 3 Pigmentbanden auf dem ungefärbten PAGplate auszumachen. Im Mittel konnten 40 (IEF) bzw. 35 (UDIEF) Banden differenziert werden. Die Proteinmuster der Nieren von Versuchs- und Kontrolltieren waren weitgehend identisch und geringe Unterschiede offenbar individuell bedingt.

Die Milz-Pherogramme zeigten eine gewisse Ähnlichkeit mit den Nieren-Pherogrammen. Es ließen sich durchschnittlich 32 Banden differenzieren (UDIEF). Eine Tendenz zur Unterscheidung von Versuchs- und Kontrolltieren war nicht ersichtlich.

Die Pankreas-Pherogramme variierten teilweise schon bei Parallelproben (1 Tier, 2 Entnahmestellen) erheblich, desgleichen innerhalb einer Gruppe. Ein Vergleich Versuchstiere/Kontrolltiere erbrachte keinen einheitlichen Unterschied.

3.3.4.3. Unspezifische Esterasen in Leber und Niere (Fütterungsversuch A)

Als unspezifische oder Alpha-Esterasen werden Carboxylesterase-, Arylesterase-, Acetylesterase- und Cholinesterase-Isoenzyme bezeichnet. Aus Leber konnten 7 - 8 verschiedene Esterasen im pH-Bereich 4.5 - 6.3 dargestellt werden; von den Esterase-Isoenzymen der Niere befanden sich die 8 deutlichsten im pH-Bereich zwischen 6.5 und 7.3; 5 weitere Esterasen, mitunter nur schwach angedeutet oder ganz fehlend, waren im pH-Bereich 4.5 - 6.5 zu finden.

Die Esterasen-Zymogramme von Versuchs- und Kontrolltieren waren weder qualitativ noch von der Intensität der Banden her der einen oder anderen Gruppe zuzuordnen, die Unterschiede waren offensichtlich individuell.

3.3.4.4. Saure Phosphatase in Leber und Niere (Fütterungsversuch B)

Aus Leber konnten 4 Isoenzyme mit den folgenden isoelektrischen Punkten dargestellt werden: 5.3, 5.5, 5.8, 7.8.

Die Nieren zeigten 7 - 10, zum Teil sehr kräftige Banden im anodischen Bereich (pH 5.0 - 6.2), sowie das Isoenzym mit dem IP 7.8. Die Hauptbanden stimmten bei allen Tieren überein.

Die auftretenden geringen qualitativen Unterschiede zwischen den einzelnen Zymogrammen waren ebenso wie Intensitätsunterschiede auch hier wieder individueller Natur und unabhängig von der Zugehörigkeit zu Versuchs- oder Kontrolltieren.

3.4. Befunde der klinischen Laboruntersuchungen (Fütterungsversuch B)

3.4.1. Harnstoffgehalt im Serum

Der Harnstoffgehalt im Serum war an beiden Untersuchungstagen bei Versuchs- und Kontrolltiergruppe nicht signifikant verschieden. Mit $\bar{x}$ = 22 mg/100 ml bei s = 3.6 und $\bar{x}$ = 18 mg/100 ml bei s = 1.7 für die Versuchstiergruppe lagen diese jedoch an beiden Tagen im Mittel etwas

niedriger als die der Kontrolltiergruppe mit $\bar{x} = 26$ mg/100 ml bei $s = 2.7$ und $\bar{x} = 22$ mg/100 ml bei $s = 3.9$. Sämtliche Tiere beider Gruppen befanden sich im Normalbereich von 10 bis 45 mg Harnstoff pro 100 ml Serum (SCHMIDL, 1981) Tab. 27.

3.4.2. GOT, GPT und alkalische Phosphatase im Serum

Auch bei den untersuchten Serumenzymen zeigten sich an beiden Untersuchungstagen keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltiergruppe (Tab. 27).

Die Werte für GOT lagen bei Versuchstieren mit $\bar{x} = 38$ U/l bei $s = 9.5$ und $\bar{x} = 35$ U/l bei $s = 5.4$ sowie bei Kontrolltieren mit $\bar{x} = 37$ U/l bei $s = 5.7$ und $\bar{x} = 28$ U/l bei $s = 9.4$ alle im Normalbereich bis 80 U/l (SCHMIDL, 1981).

Dasselbe gilt für die GPT-Werte. Die Versuchstiere unterschieden sich an beiden Untersuchungstagen mit $\bar{x} = 20$ U/l bei $s = 4.8$ und $\bar{x} = 15$ U/l bei $s = 7.6$ kaum von der Kontrolltiergruppe mit $\bar{x} = 18$ U/l bei $s = 6.0$ und $\bar{x} = 16$ U/l bei $s = 4.6$ (Normalwerte bis 50 U/l, SCHMIDL, 1981).

Die alkalische Phosphatase war bei einzelnen, sowohl Versuchs- als auch Kontrolltieren, etwas erhöht. Auch der Mittelwert der Versuchstiere lag mit 213 U/l bei $s = 58$ knapp über der Normalwertgrenze von 200 U/l (SCHMIDL, 1981), unterschied sich aber von der Kontrolltiergruppe mit $\bar{x} = 186$ U/l bei $s = 47.3$ nicht signifikant.

3.4.3. Konzentrationen der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion-, Isobutter-, Butter-, Isovalerian- und Valeriansäure im Pansensaft

Bei den Pansensaftproben vom 5.5.82 (9 Versuchs- und 4 Kontrolltiere) waren die Konzentrationen sämtlicher untersuchter Fettsäuren bei der Versuchsgruppe signifikant niedriger ($\alpha = 0.05$) als bei der Kontrollgruppe (Tab. 28). Die Gesamtkonzentration der flüchtigen Fettsäuren war bei der Kontrollgruppe mit $\bar{x} = 122$ mmol/l bei $s = 40$ fast doppelt so hoch wie bei der Versuchsgruppe mit 67 mmol/l bei $s = 23$ (Abb. 13). Damit bewegten sich die beiden Gruppen an der von KOLB (1980) angegebenen unteren bzw. oberen Grenze des Normalbereiches (60 bis 120 mmol Gesamtfettsäuren pro Liter Pansensaft).

Die Pansensaftproben vom 17.5.82 (5 Versuchs- und 5 Kontrolltiere) zeigten ebenfalls die deutliche Tendenz zu erniedrigten Fettsäuregehalten

Tab. 27

GOT, GPT, Alkalische Phosphatase und Harnstoff im Serum^{x)}

(Fütterungsversuch B)

	Tier Nr.	G O T U/l		G P T U/l		A P U/l	Harnstoff mg/100 ml	
mit Legehennetrockenkot-Zufütterung	2	39	36	18	10	200	22	17
	3	35	26	21	13	240 ↑	22	17
	4	31	37	21	15	181	25	17
	5	35	37	21		293 ↑	25	17
	8	30	42	17	8	208 ↑	28	22
	9	32	36	12	22	182	22	19
	10	42	42	20	30	175	22	19
	12	61	30	29	16	129	17	17
	13	36	31		8	310 ↑	17	17
	$\bar{x}$ s	38 9.5	35 5.4	20 4.8	15 7.6	213 58	22 3.6	18 1.7
Kontrolltiere	1	39	26	20	13	244 ↑	25	28
	6	41	38	13	19	158	22	22
	7	27	13	10	9	224 ↑	28	22
	11	40	32	22	20	175	28	17
	14	37	31	24	17	129	28	22
	$\bar{x}$ s	37 5.7	28 9.4	18 6	16 4.6	186 47.3	26 2.7	22 3.9
	Normal- werte bis	80		50		200	10 - 45	

^{x)} Werte links: Blutentnahme gegen Ende der Mast, 1h nach Fütterung

Werte rechts: Blutentnahme bei Schlachtung

keine signifikanten Unterschiede

Tab. 28

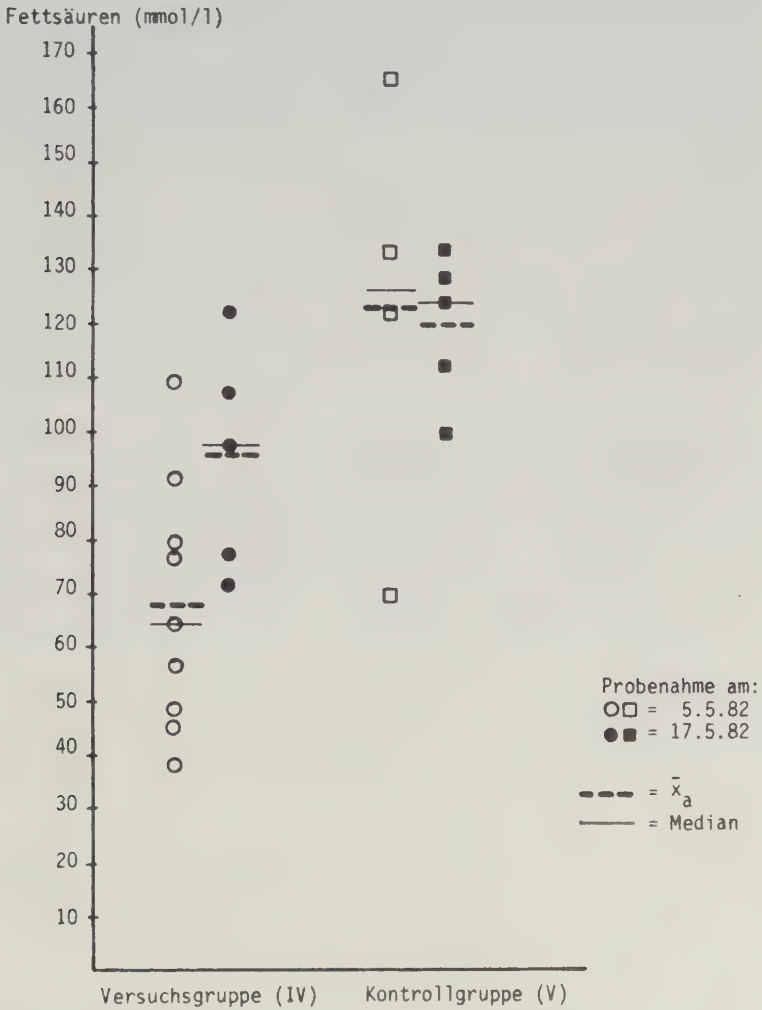
Konzentration von flüchtigen Fettsäuren im Pansen (mmol/l) von Mastbullen
(Fütterungsversuch B)

Mast- gruppe Nr.	Tier	Essigsäure	Propionsäure	Isobuttersäure	Buttersäure	Isovaleriansäure	Valeriansäure	Σ FS
Probenahme		5.5.82 17.5.82	5.5. 17.5	5.5. 17.5	5.5. 17.5	5.5. 17.5	5.5. 17.5	5.5. 17.5
2	30	-	7.3	-	5.2	-	0.7	45
3	61	63.8	17	1.1	9.2	10.6	1.3	91
4	71.6	70.1	20.1	1.1	12.4	11.8	2.1	109
5	41.7	81.8	10.6	0.8	9.1	13.4	1.1	64
8	36.6	-	11.3	-	5.9	-	0.8	56
9	24.2	51.8	6	0.3	6.4	8.7	0.6	38
10	31.8	-	8.2	-	5.7	-	0.8	48
12	54.4	-	13.6	-	8.3	-	0.9	79
13	50.4	46	13.8	0.8	9.5	8.3	1.3	77
$\bar{x}$	44.6 ⁺	63.0	12.0 ⁺	0.8 ⁺	8.0 ⁺	10.6	1.6 ⁺	67 ⁺
s	15.8	14	4.6	0.3	2.4	2.1	0.5	23
1	-	81.1	-	-	1.3	-	2.2	-
6	45	82	13.3	0.9	1.4	12.9	1.2	69
7	78.4	53.3	24.9	1.7	1.5	10.8	2.6	121
11	107	87.3	27.3	1.8	1.6	22.7	3.3	165
14	87.6	74	23.7	1.6	1.4	14.1	2.3	133
$\bar{x}$	79.5	78.0	22.3	1.5	1.4	13.7	2.7	122
s	26	9	6.2	0.4	0.1	6.7	1.0	40

+ = Werte signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe ($\alpha = 0.05$)

Abb. 13

Gesamtkonzentration der flüchtigen Fettsäuren (C2, C3, iC4, C4, iC5, C5) im Pansensaft (Fütterungsversuch B)



bei den Versuchstieren. Signifikante Unterschiede traten jedoch bei diesen Proben nur bei den verzweigten Fettsäuren Isobutter- und Iso-valeriansäure auf (Tab. 28, Abb. 14). Der Gesamtfettsäuregehalt unterschied sich diesmal mit $\bar{x} = 95 \text{ mmol/l}$ bei $s = 21$ für die Versuchstiere und $\bar{x} = 119 \text{ mmol/l}$ bei $s = 14$ für die Kontrolltiere nicht so deutlich, beide Gruppen lagen wieder im Normalbereich (Abb. 13).

Die prozentualen Anteile von Essig-, Propion- und Buttersäure an der Gesamtfettsäuremenge waren bei Versuchs- und Kontrollgruppe praktisch gleich. Die Werte für Essigsäure mit 65 bis 66 mol %, für Propionsäure mit 18 mol % und für Buttersäure mit 11 bis 12 mol % lagen alle im physiologischen Bereich (KOLB, 1980).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß bei den Versuchstieren eine Tendenz zu verringerten Gehalten an flüchtigen Fettsäuren - vor allem an verzweigten Fettsäuren - im Pansensaft festzustellen war. Die Konzentrationen lagen im Gruppenmittel jedoch im physiologischen Bereich. Die Verhältnisse Essig- zu Propion- zu Buttersäure blieben unverändert.

3.5. Pathologisch-anatomische Befunde

Bei den Tieren des Fütterungsversuches A ergab eine Untersuchung nach fleischbeschaulichen Kriterien folgende Befunde:

Multiple Leberabszesse (bis walnußgroß) wurden bei 1 Versuchs- und 2 Kontrolltieren festgestellt. Eines dieser Kontrolltiere hatte außerdem eine chronische Kniegelenksentzündung.

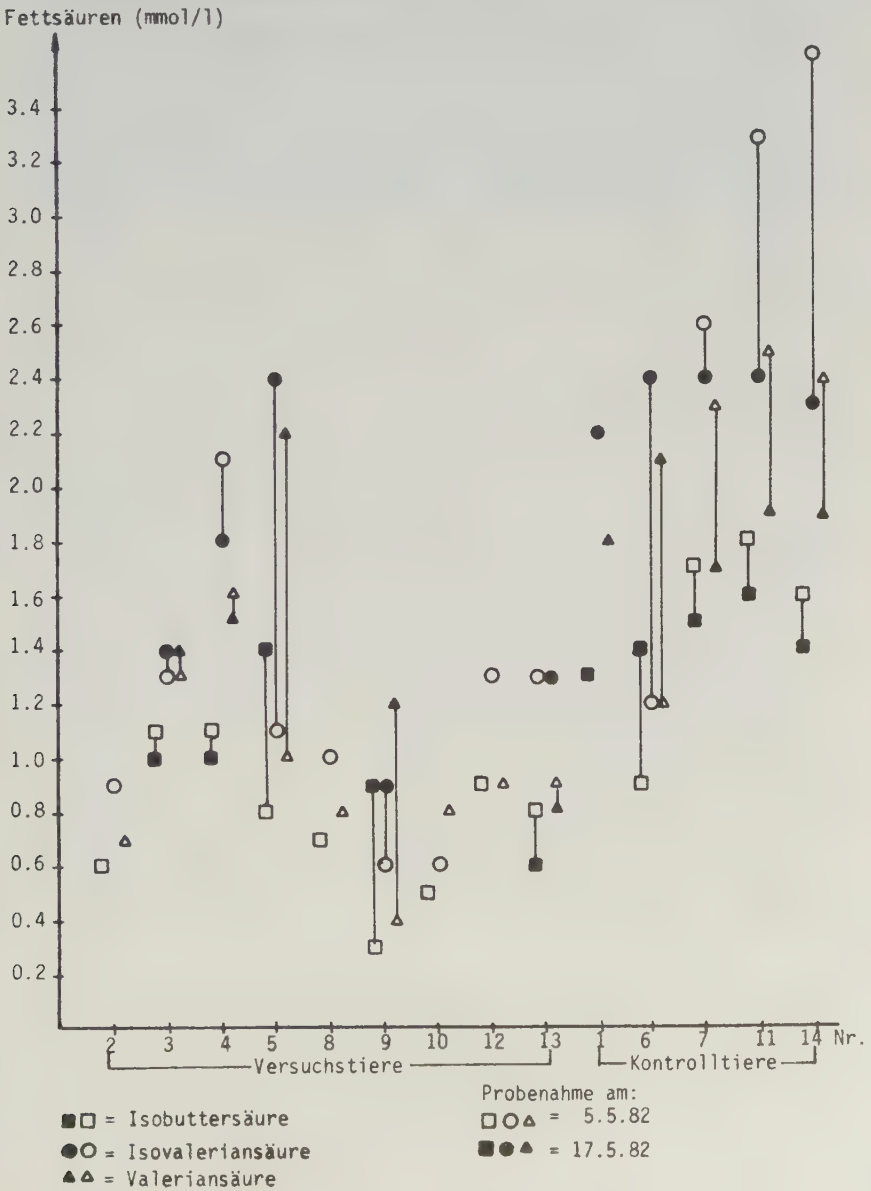
Nierenzysten (hasel- bis walnußgroß) waren bei 2 Versuchstieren und 1 Kontrolltier zu finden. Multiple Niereninfarkte (stecknadelkopfgroß) konnten schon äußerlich bei 1 Versuchstier-Niere und der außerdem mit Zysten behafteten Kontrolltier-Niere festgestellt werden.

So ergaben sich für die einzelnen Gruppen folgende Prozentzahlen für Tiere mit pathologischen Veränderungen: Mastgruppe I (Kontrollen) 40 %, Mastgruppe II 33 % und Mastgruppe III 11 % (Tab. 29). Eine ursächliche Beteiligung des Legehennentrockenkotes an der insgesamt recht hohen Zahl pathologischer Veränderungen war nicht ersichtlich.

Bei den Tieren des Mastversuches B ergab die pathologisch-anatomische Untersuchung folgende Befunde:

Abb. 14

Konzentrationen der flüchtigen Fettsäuren Isobuttersäure, Isovaleriansäure und Valeriansäure im Pansen saft (Fütterungsversuch B)



Multiple Leberabszesse (bis hühnereigroß) wurden bei 1 Versuchstier gefunden. Besondere Aufmerksamkeit galt den Magen- Darmlymphknoten. Folgende Befunde konnten nach Anschnitt bei Jejunal- und Caecallymphknoten von 4 Versuchs- und 3 Kontrolltieren erhoben werden: Vorquellende, nasse Schnittfläche, massiv mit punktförmigen Blutungen durchsetzt (Tab. 29).

Aufgrund des ausgewogenen Vorkommens dieser Lymphadenitiden bei Versuchs- sowie Kontrolltieren ist auch hier die Ursache nicht in der Trockenkotfütterung zu sehen.

Tab. 29

Pathologisch-anatomische Befunde bei den Mastbullen der Fütterungsversuche A und B (Tier Nr.)

Veränderungen	Fütterungsversuch A Mastgruppe			Fütterungsversuch B Mastgruppe	
	I(Ko) n = 10	II n = 10	III n = 9	IV n = 9	V(Ko) n = 5
Leberabszesse	12, 6	28		9	
Nierenzysten	25	24	29		
Niereninfarkte, multipel	25	21			
Niere lehmgelb verfärbt	10				
Kniegelenkentzündung	6				
Darmlymphknoten geschwollen, mit Blutpunkten durchsetzt				3, 4, 8, 10	6, 11, 14
Σ der Tiere mit pathologischen Veränderungen in %	40	33	11	56	60

D.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Eignung von Legehennentrockenkot für die Rindermast ist an die gesundheitliche Unbedenklichkeit dieser Substanz geknüpft.

Der mikrobiologische Status des Trockenproduktes, der durch die überlebenden Bazillen geprägt war, könnte Anlaß zu Bedenken geben. Die Gesamtkeimzahl war im Mittel etwa eine halbe Zehnerpotenz höher als bei Legehennenfutter (REUTER et al., 1981) und eine halbe Zehnerpotenz niedriger als die mittlere Gesamtkeimzahl der Maissilagen. Allerdings betrug in der Silage der Anteil der Bazillen nur etwa 1 % der Gesamtkeimzahl. Bazillen kommen auch in herkömmlichen Eiweißfuttermitteln in annähernd gleicher Menge vor.

Für die qualitative Beurteilung eines Futtermittels dürfen Keimzahlen nicht als starre Grenzwerte angesehen werden. Nicht nur die Gesamtkeimzahl der Mikroorganismen, sondern vor allem ihre Artzugehörigkeit ist entscheidend. Das Vorherrschen einer bestimmten Keimart deutet entweder auf einen Verderb oder auf eine Selektierung auf Grund eines technischen Prozesses hin. Ein breites Spektrum von Keimarten ist oft unbedenklicher, auch wenn diese Mikroorganismen in hohen Zahlen vorliegen (FLATSCHER und WILLINGER, 1981).

Die Selektierung hitzeresistenter Stammformen sowie das vermehrte Vorkommen fakultativ anaerob wachsender Bazillenstämme im Trockenkot könnten jedoch zu einer Beeinflussung der Mikroökologie des Pansens führen. Bekannt pathogene oder toxische Bazillenstämme, die als Verursacher von Lebensmittelvergiftungen genannt wurden, wie vor allem *B. cereus*, konnten unter den Isolaten allerdings nicht nachgewiesen werden, so daß allein der Einfluß auf die Pansenökologie in Betracht zu ziehen ist.

Bei den nicht regelmäßig und außerdem nur in geringen Mengen nachgewiesenen Clostridienanteilen muß beachtet werden, daß sich dieser Sachverhalt nur auf Legehennenkot aus Käfighaltung bezieht. Nach Angaben von KÜHLER et al. (1977) muß bei Bodenintensivhaltung, speziell von Broilern, mit vermehrtem Auftreten auch von pathogenen Clostridien

(C1. perfringens) im Kot gerechnet werden. Nach SCHETTLER (1979) gilt dieser Sachverhalt auch für C1. botulinum.

Enterobacteriaceae ließen sich so gut wie gar nicht und Salmonellen in keinem Fall nachweisen; damit wurden frühere Untersuchungen an 15 Legehennentrockenkot-Chargen bestätigt (REUTER et al., 1981). Im Gegensatz dazu stellt die Salmonellenkontamination bei herkömmlichen Eiweiß-futtermitteln ein erhebliches Problem dar, wie neuere Untersuchungen von FLATSCHER und WILLINGER (1981) zeigten. Aus 18 Fischmehlproben wurden in 8 Fällen (44.4 %) und aus 35 Tierkörpermehlproben ebenfalls in 8 Fällen (23.5 %) Salmonellen isoliert.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen fanden auch CHANG et al. (1974) in den USA in Legehennentrockenkot am häufigsten Bazillen. Die Gesamtkeimzahl der 17 Chargen lag im Mittel ca. eine Zehnerpotenz unter der von uns gefundenen. HACKING et al. (1977) ermittelten in England stark variierende Gesamtkeimzahlen, die im Mittel auch etwas unter unseren Werten lagen. Gegensätzlich zu unseren Befunden wurden aus ca. einem Viertel der untersuchten Proben coliforme Keime isoliert. Die Salmonellenfreiheit aller untersuchter Trockenkotchargen wurde ausdrücklich bestätigt.

Unterschiedliche Keimzahlen und Keimflora-Anteile in Trockenkot resultieren vor allem aus verschiedenen Trocknungsverfahren und -temperaturen. Eine Erklärung für die von uns ermittelten Werte kann auch in der Untersuchungstechnik und in dem generell parallelen Ansatz einer anaeroben Plattenkultivierung gesehen werden. Dadurch wurde für die fakultativ anaeroben Bazillenspezies eine gute Nachweismöglichkeit gegeben.

Die Mikroflora verschiedener Abschnitte des Magen- Darmtraktes war bei den Versuchsgruppen des Fütterungsversuches A nicht signifikant verschieden und entsprach qualitativ und quantitativ dem einer normalen Rinder-Intestinalflora (MAKI und PICARD, 1965). Der Clostridiengehalt hatte sich durch die Trockenkotfütterung nicht erhöht und lag in einem Bereich, wie er auch von ALI-YRKKÖ und ANTILA (1975) für Rindermist nach Silagefütterung angegeben wurde. Die in Pansen- und Caecuminhalt leicht erhöhten Bazillenanteile bei den Versuchstieren (Fütterungsver-

such A), die Nivellierung dieser Differenzen bis zum Enddarm sowie ein erhöhter Anteil fakultativ anaerob wachsender Bazillen im Panseninhalt der Versuchstiere (Fütterungsversuch B) sprachen für qualitative Veränderungen der Bazillenflora zugunsten der mit dem Trockenkot in relativ großer Menge zugeführten Stämme.

Die kontinuierliche Aufnahme von darmfremden Bakterien und der Anfall von daraus resultierenden Stoffwechselprodukten, die teilweise für den Körper toxisch sind, kann zu einer Verdickung der Darmschleimhaut und zur Abflachung der Darmzotten führen, woraus eine Malabsorption für bestimmte Stoffe resultiert (GEDEK, 1970). Sichtbare klinische oder pathologisch-anatomische Auswirkungen auf die Masttiere konnten jedoch nicht festgestellt werden, obwohl ursprünglich der Verdacht von Erosionen in der Pansenschleimhaut bei einem seziierten Tier entstanden war.

Daß diese Verschiebungen der Pansenökologie möglicherweise aus fleischhygienischer Sicht eine gewisse Bedeutung besitzen, zeigten Ergebnisse späterer Untersuchungen, wonach zwischen dem Bazillengehalt des Pansens und positiven Hemmstofftest-Befunden in der Muskulatur der Versuchstiere Zusammenhänge vermutet werden mußten. Aus diesem Grunde wurden die Auswirkungen der Trockenkot-Bazillenisolat auf die Mikroökologie des Pansens näher untersucht.

Die im Trockenkot vorhandenen selektierten Bazillenstämme waren im Pansen wieder nachzuweisen. Relativ viele dieser Pansensaftisolate mit Herkunft aus Trockenkot waren Lecithinase-positiv. Entgegen der früheren Meinung, daß diese Eigenschaft auf *B. cereus* beschränkt ist (BREED et al., 1957), wurde in neuerer Zeit Lecithinasebildung auch bei anderen Bazillen, wie *B. subtilis*-, *B. licheniformis*- oder *B. pumilus*-Stämmen beobachtet. Da ein Zusammenhang zwischen Lecithinase- und Toxinbildung bestehen dürfte und auch Lebensmittelvergiftungen durch Lecithinase-positive *B. subtilis*-, *B. licheniformis*- und *B. pumilus*-Stämme beschrieben wurden (BERKEL und HADLOK, 1976), sind diese Lecithinase-positiven Trockenkot-/Pansensaftisolate nicht ohne weiteres als unbedenkliche Bestandteile einer normalen Futtermittelflora einzustufen. Da bei den Versuchstieren jedoch keinerlei klinische und pathologisch-anatomische Anzeichen einer Gesundheitsstörung vorlagen, dürften die vorhandenen *B. licheniformis*- und *B. subtilis*-Stämme unbedenklich gewesen sein.

Daß ein Teil der Trockenkot-Bazillenstämme gleichermaßen im Pansensaft von Versuchs- und Kontrolltieren vorkam, deutet auf das Vorhandensein dieser Stämme auch in Futterkomponenten hin, welche alle Mastgruppen erhielten (z.B. Gerste). Auch der Kontakt der Tiere untereinander spielt für die mikrobielle Besiedlung der Vormägen eine Rolle (KOLB, 1980). Für das fast ausschließliche Vorkommen zweier Isolate aus der Silage bei Kontrolltieren (Fütterungsversuch B) könnten antagonistische Wirkungen anderer Stämme verantwortlich gewesen sein. Denkbar wäre eine Unterdrückung dieser Stämme bei den Versuchstieren durch den Hemmsubstanz produzierenden *B. licheniformis*-Stamm Nr. 7 aus Trockenkot.

Die antibakteriellen Wirkungen der Trockenkotextrakte waren nachweislich nicht auf in der Fütterung eingesetzte Antibiotika zurückzuführen, sondern standen offensichtlich in Zusammenhang mit der Kotmikroflora. Von der Bildung keimhemmender Substanzen durch eine Hühnerkot-Mikroflora wurde verschiedentlich berichtet (ROYAL und MULTIMER, 1972; SNOEYENBOS et al., 1978, 1979; RIGBY und PETTIT, 1980; DORN und KRABISCH, 1981). Dagegen fanden GILKA et al. (1980) in Geflügelkot-Konzentraten keine antimikrobiellen Stoffe.

Bei der Untersuchung auf Bacteriocin-ähnliche Substanzen zeigte sich, daß ein Teil der Bazillenisolate in der Lage war, Substanzen zu produzieren, die das Wachstum von *B. subtilis* BGA hemmten. Dabei erwiesen sich die Hemmsubstanzen, produziert von Trockenkotisolaten, im Gegensatz zu solchen von Silageisolaten, als recht temperatur- und pH-stabil, so daß mit einer Wirkung auf andere verwandte Stämme und Spezies auch im Pansenmilieu zu rechnen war. Das fehlende Diffusionsvermögen durch die semipermeable Membran deutet auf höhermolekulare Verbindungen hin. Bei Bacteriocinen handelt es sich im allgemeinen um Proteine (BRANDIS, 1979), die jedoch auch erhebliche pH- und Temperaturstabilität (bis 100° C) besitzen können (LOWITZ und KRAMER, 1983). Als zur Bacteriocinbildung befähigte Bazillenstämme wurden *B. stearothermophilus*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* und *B. thuringiensis* beschrieben (SHAFIA, 1966; BRADLEY, 1967; REEVES, 1972; DE BARJAC und LAJUDIE, 1974). Die Stämme *B. subtilis*, *B. colistinus*, *B. polymyxa* und *B. brevis* sind die Produzenten der klinisch bedeutenden Antibiotika Bacitracin, Colistin, Polymyxin und Tyrothricin (SPRECHER, 1982).

Klinisch sind diese schwach konzentrierten, natürlichen antibakteriellen Stoffe unbedenklich. Eine gewisse Bedeutung könnten sie höchstens für die empfänglichen Mikroflora-Anteile des Pansens haben, in dem es möglicherweise zu Verschiebungen der Mikroflora kommt.

Geht man von der begründeten Annahme aus, daß Bacteriocin-ähnliche Substanzen der Trockenkot-Bazillenflora für die nach Extraktion aufgetretenen Hemmwirkungen verantwortlich waren, dann überrascht zunächst das relativ breite Wirkungsspektrum dieser Substanzen (Hemmung von *B. subtilis*, *Mc. flavus* und *Mc. luteus*). Es ist jedoch bekannt, daß Bacteriocine von grampositiven Bakterien ein breiteres Wirtsspektrum, Bacteriocine von gramnegativen Bakterien dagegen meist ein sehr enges Wirtsspektrum haben (BRANDIS, 1979). So hemmen Bacteriocine, gebildet von verschiedenen Varianten des *B. thuringiensis*, nicht nur viele Spezies desselben Genus, sondern auch *St. aureus*-Stämme (DE BARJAC und LAJUDIE, 1974).

Auf die Möglichkeit, daß Reste von Vitaminzusätzen aus dem Futter im Legehennentrockenkot zu Hemmwirkungen geführt haben könnten, wurde von WOERNLE (1981) verwiesen. Die Überprüfung wäßriger Lösungen der Vitamine B₁, B₂, B₆, Pantothensäure, Cholinchlorid, Folsäure, Vitamin A, D₃, E und K in der zehnfachen Konzentration, wie sie für Legehennenfutter empfohlen wird, im Hemmstofftest, brachte immer negative Ergebnisse.

Die positiven Befunde beim Hemmstofftest mit Muskelproben bei gleichzeitig negativen Nieren waren ungewöhnlich, da aus physiologischen Gründen eher das Gegenteil zu erwarten wäre und auch in der Literatur beschrieben wird (SCHOTHORST, 1970, GEMMER et al., 1973). Auch unspezifische Reaktionen, hervorgerufen etwa durch Lysozym, wurden meist bei (gefrorenen) Nieren beobachtet (HEINERT et al., 1976). VAN DER WALL (1978) konnte allerdings auch in Muskelproben Lysozymaktivität feststellen. Einen hohen Prozentsatz falsch-positiver Ergebnisse hatten auch SMITHER et al. (1980) bei der Untersuchung von Zwerchfellsproben von Rindern, Schweinen und Pferden mittels Hemmstofftest mit *B. subtilis* BGA und *Mc. luteus* als Testkeime festgestellt. Unseren Ergebnissen ähnlich waren die Hemmstofftest-Befunde von GILKA et al. (1981 b). Die Muskelproben (Keule) von mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefütterten Bullen zeigten häufiger und größere Hemmhöfe als die Kontrolltiere; Niere und

Leber waren ebenfalls negativ. Da jedoch statistisch absicherbare Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe nicht festgestellt werden konnten, wurden unspezifische Hemmstoffe als Ursache vermutet. Erörtert wurde auch die mögliche ursächliche Beteiligung von Medikamenten, die nicht zur Gruppe der Antibiotika gehören, wie z.B. Buscopan.

Bei den von uns festgestellten Reaktionen wurden Zusammenhänge mit der Bazillenflora des Intestinaltraktes vermutet. Dabei zeichnete sich eine Abhängigkeit der positiven Hemmstofftests von hohen Bazillengehalten im Panseninhalt ab. Als Erklärung könnte die Annahme dienen, daß es durch laufende Substitution mit entsprechenden Mikroorganismen der Trockenkotflora zur Bildung antibakterieller Substanzen auch im Pansenmilieu der Tiere und zu einer Resorption derartiger Substanzen in die Körpergewebe kam. Ein ähnlicher Mechanismus, jedoch mit anderer Auswirkung, wurde von GEDEK (1970) beschrieben. Demnach führt die Aufnahme hoch kontaminierter Futtermittel zu einer Anhäufung von bakteriellen Zersetzungsprodukten und Eiweißspaltprodukten, welche nach Resorption anaphylaktoide Reaktionen verursachen können, die stets dosisabhängig sind.

Bei Fütterungsversuch B konnte leider die quantitative Relation zwischen dem Bazillengehalt im Pansen und den positiven Hemmstoffbefunden nicht bestätigt werden. Bazillengehalte in einer Größenordnung, die in Fütterungsversuch A meist positive Befunde ergaben, zeigten diesmal negative Befunde. Möglicherweise spielten jedoch bei den mit den verschiedenen Trockenkotchargen aufgenommenen Bazillen neben den quantitativen auch qualitative Aspekte eine Rolle.

Hinsichtlich der Fähigkeit zur Bildung Bacteriocin-ähnlicher Substanzen erwiesen sich die Bazillenisolat aus den Trockenkot- und Maissilagechargen des Fütterungsversuches A den entsprechenden Isolat des Fütterungsversuches B als überlegen. Damit läßt sich der nicht wiederholbare Befund zwischen Versuch A und B erklären. Somit kann weder der positive Hemmstofftest-Befund in der Muskulatur von Fütterungsversuch A noch der negative von Versuch B verallgemeinert werden.

Häufiger und stärker als durch native Muskelproben wurde das Wachstum der Testkeime durch Acetonitril-Gewebeextrakte gehemmt (Fütterungsver-

such A). Die mehrfach positiven Befunde, auch bei Kontrolltieren, sprachen für unspezifische, d.h. nicht etwa durch aus dem Gewebe extrahierte und konzentrierte Chemotherapeutika-Reste verursachte Hemmwirkungen.

Über unspezifische Reaktionen von konzentrierten Gewebeextrakten wurde mehrfach berichtet (PEDERSEN, 1965; LOFTGAARD et al., 1967; MORENO et al., 1980). Nach PEDERSEN (1965) muß generell damit gerechnet werden, daß der Versuch, die Nachweisempfindlichkeit dieser mikrobiologischen Methode zu erhöhen, mit einer verstärkten Wahrscheinlichkeit von unspezifischen Reaktionen einhergeht.

Auch bei der Beurteilung der Hemmung des gegenüber bestimmten Antibiotika (z.B. Bacitracin) sehr empfindlichen Testkeimes *Mc. flavus* durch die Mehrzahl der Muskelextrakte von Versuchs- und Kontrolltieren muß dieser Sachverhalt berücksichtigt werden. Möglicherweise sprach der zu unspezifischen Reaktionen neigende Keim (SCHMIDT und WOLTERSDORF, 1974; GILKA et al., 1981b) hier bereits auf ungenügend gepuffertes Muskellaktat an. Als weitere Ursachen für diese unspezifischen Reaktionen wurden Reste von Extraktionsmitteln, bakteriostatische Substanzen aus dem Gewebe oder antibiotische Substanzen, gebildet von der Intestinalflora, vermutet (PEDERSEN, 1965).

Einen Überblick über die Vielzahl antimikrobieller Faktoren in normalem Gewebe gaben SKARNES und WATSON (1957). MORENO et al. (1980) stellten fest, daß die unspezifischen Hemmungen durch Hühnermuskel-Extrakte zwar mit dem Laktatgehalt und pH-Wert der Extrakte zusammenhingen, durch Neutralisation zwar reduziert, aber nicht zum Verschwinden gebracht werden konnten. Häufiger und intensiver traten Hemmungen mit zunehmender Fleischreifung auf. Als Ursachen wurden Substanzen vermutet, die post mortem im Muskel gebildet werden.

Die bei Fütterungsversuch B bei nahezu allen Versuchs- und Kontrolltieren festgestellte schwache Hemmung (< 2 mm) des Testkeimes *B. subtilis* BGA durch Muskelextrakte war offensichtlich pH-Wert-bedingt. Dafür sprechen die negativen Reaktionen der beiden Extrakte mit den dem Neutralpunkt nächsten pH-Werten sowie die negativen Ergebnisse auf den Hemmstoffplatten mit pH 8. Grund dafür dürfte der gestiegene Laktatgehalt der erst 24 Stunden p.m. extrahierten Muskulatur gewesen sein. Für eine Testkeim-Wachstumshemmung durch im Extrakt angereicherte Milchsäure

sprach weiterhin die Hemmwirkung beidseits einer semipermeablen Membran, durch die Laktat als kleines Molekül diffundieren kann. Auch LOFTSGAARD et al. (1967) fanden bei Acetonitril-Muskelextrakten von Schweinen unspezifische Hemmzonen, deren Größen abhängig waren vom Alter der Proben post mortem. Die größten Hemmzonen wurden bei Proben 24 Stunden p.m. festgestellt.

Die in den Trockenkot-Chargen gefundenen Schwermetallgehalte stimmten im allgemeinen mit den Literaturangaben überein, wobei der Kupferwert an der oberen Grenze lag. Eine Kupferintoxikation ist beim Rind jedoch auch bei diesen Gehalten nicht zu befürchten.

Der Bleigehalt in der bei Mastversuch B verfütterten Trockenkot-Charge lag mit 22 mg/kg im Vergleich zu den anderen untersuchten Chargen und auch zu den Literaturangaben recht hoch. Die in der FMV, Anlage 5 (1981), angegebenen Grenzwerte liegen jedoch für Alleinfuttermittel für Rinder, ebenso wie für vergleichbare Einzelfuttermittel mit hohem Mineralstoffgehalt (z.B. Knochenmehl), bei 30 mg/kg. In Anbetracht des durchschnittlichen Gehaltes von 1.3 mg/kg Blei in den 4 Trockenkot-Chargen von Mastversuch A kann der hohe Wert in Charge 5 als nicht repräsentativ angesehen werden.

Die Cadmiumgehalte entsprachen Werten in anderen Futter- und auch Lebensmitteln und können als unbedenklich gewertet werden.

Zur Erkennung von substantiellen Fleischqualitätsabweichungen wurden sowohl praxisübliche Verfahren, wie pH-Wert-Messung, Rigor-Messung und Bestimmung des auspreßbaren Gewebewassers eingesetzt (REUTER, 1982) als auch weitergehende chemisch-analytische Untersuchungen zur Zusammensetzung der Muskulatur sowie sensorische Tests.

Die bei Versuchs- wie Kontrolltieren gemessenen pH-Werte stimmten mit den für normale Rinderschlachtierkörper gemachten Literaturangaben überein (FREUDENREICH et al., 1980; HONIKEL und WOLTERSDORF, 1982; ALI-SEID, 1983). Die ungenügende Fleischreifung eines Versuchstieres, dessen hohe pH-Werte für DFD-Fleischqualität sprachen (SCHEPER und FISCHER, 1978), war wohl durch einen insgesamt schlechten Gesundheitszustand des Tieres bedingt. Es wurden multiple Leberabszesse sowie im

Rahmen einer bakteriologischen Untersuchung Mikrokokken in Lebergewebe, Harn und Muskulatur gefunden.

Auch die Rigor-Werte von Versuchs- und Kontrollgruppe lagen in den von REUTER (1982) angegebenen normalen Bereichen für Prärigor (Messung 1 Stunde p.m.) und Rigor (Messung 24 Stunden p.m.). Die Messung am frischen Anschnitt des schlachtwarmen M. longissimus dorsi erbrachte immer den Wert Null, da der Muskelstrang in dem ihn umgebenden Gewebe zuwenig fixiert war.

Die Werte für das auspreßbare Gewebewasser, die als Quotient von Fleisch zu Gesamtfläche angegeben wurden (Q-Werte), entsprachen Angaben von ALI-SEID (1983) für normale Rinderschlacht tierkörper. Die im allgemeinen feststellbare Verringerung der Q-Werte nach 24 Stunden ist auf den pH-Wert-Abfall und den hierdurch bedingten erhöhten Gehalt an auspreßbarem Gewebewasser zurückzuführen. Nach FOX und CONDON (1982) ist das Wasserbindungsvermögen von Muskulatur bei pH 5, dem isoelektischen Punkt von Aktomyosin, durch enges Aneinanderlagern der Muskelproteine und Verdrängung des dazwischengelagerten Gewebewassers, am geringsten. Für die Fälle, in denen der Q_{24} -Wert höher lag als der Q_1 -Wert, kann angenommen werden, daß die Probenahme nicht ausreichend tief in der Muskulatur erfolgte, sondern die Quetschprobe aus einer oberflächlich bereits abgetrockneten Fleischpartie entnommen wurde.

Der ermittelte Gesamtwassergehalt in Keule, Roastbeef und Filet entsprach bei allen Mastgruppen den Werten für normales, von sichtbarem Fettgewebe befreiten Rindfleisch (NIINIVAARA und ANTILA, 1972). GILKA et al. (1981 a) hatten bei mit Geflügelkot gemästeten Bullen ebenfalls von einem unveränderten Trockensubstanzgehalt der Muskulatur berichtet, wogegen GRABOVENSKIJ und KALACHNJUK (1980) eine geringfügige Erhöhung der Trockensubstanz bei gleichzeitiger Verminderung des Fettanteils der Muskulatur feststellten.

Die intramuskulären Fettanteile der 3 untersuchten Muskeln lagen bei allen Mastgruppen übereinstimmend in der in der Literatur angegebenen Spanne, wobei die Angaben auch für denselben Muskel je nach Rasse, Alter und Geschlecht der Tiere mitunter erheblich differierten (GRAU, 1960, LAWRIE, 1970). Der intramuskuläre Fettgehalt ist vor allem deshalb von

Interesse, weil zwischen ihm und den organoleptischen Qualitäten des Fleisches signifikante Korrelationen bestehen (DRYDEN und MARCHELLO, 1970). Der Analysenbefund mit den praktisch identischen Fettwerten von Versuch- und Kontrolltieren stand im Einklang mit der Bewertung des Marmorierungsgrades des M. longissimus dorsi, wobei zwischen Versuchs- und Kontrolltieren ebenfalls keine Unterschiede festgestellt werden konnten. Auch GILKA et al. (1981 a) konnten bei den intramuskulären Fettgehalten des M. longissimus dorsi und des Diaphragmas von mit Geflügelkot gefütterten Bullen keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrolltieren finden. Dagegen berichteten FELKL et al. (1974) von einem deutlich niedrigeren Fettgehalt des M. longissimus dorsi bei mit getrocknetem Hühnerkot gefütterten Bullen. Möglicherweise ist eine Erklärung hierfür, daß eine durch einen hohen Trockenkotanteil schlechter Qualität energetisch unterversorgte Ration angewendet wurde.

Eine Beeinflussung der Fettsäurezusammensetzung des intramuskulären Fettes und damit auch der sensorischen Fleischqualität (DRYDEN und MARCHELLO, 1970) wäre denkbar. Nach Untersuchungen von SKELLEY et al. (1978) ergaben sich jedoch bei der Analyse der Fettsäuren der "Marmorierung" des M. longissimus dorsi von Bullen, welche unterschiedliche Rationen erhalten hatten (u.a. Maissilage, Harnstoff, Baumwollsaatmehl) keine signifikanten Auswirkungen auf die Fettsäurezusammensetzung.

Eine unterschiedliche Rationszusammensetzung, auch mit herkömmlichen Futtermitteln, kann bei Rindern die sensorische Fleischqualität beeinflussen (CROSS und DINIUS, 1978; CHASTAIN et al., 1981).

Von den verschiedenen beschriebenen sensorischen Prüfverfahren (DIN, 1976) wurde von uns der Triangeltest, kombiniert mit einer bewertenden Prüfung, ausgewählt. Der Anwendungsbereich des Tests erstreckt sich auf die Erfassung auch kleinerer Unterschiede bei zu vergleichenden Proben, sowie auf die Auslese von Einzelprüfpersonen (DIN, 1976).

Das Garen der Proben durch Mikrowelle hatte im Vergleich zum konventionellen Kochen mehrere Vorteile. So wurden als für die Entwicklung des Fleischaromas optimale Garungszeiten bei der konventionellen Erhitzung 88 min, bei Mikrowellengarung jedoch nur 2.8 min ermittelt (BODRERO et al., 1980). Die Gleichheit der Behandlung der einzelnen, vor der Garung zurechtgeschnittenen Proben scheint bei Mikrowellen-Erhitzung auch eher

gewährleistet zu sein, als wenn ein großes Fleischstück erst nach dem Kochen in einzelne Probenportionen zerteilt wird. Hierbei können Unterschiede bei Temperatur, Saftigkeit, Zartheit und Farbe auftreten, je nachdem, ob die Teilprobe aus einer äußeren oder inneren Partie des Gesamtstückes kommt. Eine weitere Besonderheit der Mikrowelle ist das Garen der Proben von innen nach außen durch Umwandlung elektrischer Energie in molekulare Bewegung und Reibungshitze. Diese ermöglicht es, den Zeitpunkt der vollständigen Durchgarung der Proben genau zu erkennen.

Als nachteilig wäre anzuführen, daß mikrowellen-erhitztes Fleisch für weniger saftig und weniger zart befunden wurde als konventionell gekochtes. Außerdem bestehen Beschränkungen hinsichtlich der maximalen Fleischprobendicke, die nicht über 10 cm betragen soll. Weiterhin dürfen sich die zu vergleichenden Proben in ihren Fett- und Bindegewebsgehalten nicht deutlich unterscheiden, da diese Gewebe die Mikrowellen unterschiedlich absorbieren und damit verschiedene Garungsgrade erreicht würden (HARRISON, 1980).

Die von uns als Zubereitungs- und Prüfgefäße benutzten abgedeckten Bechergläser boten den Vorteil, daß die Fleischstücke mit minimalem Wasserzusatz, aber auch ohne auszutrocknen, gegart werden konnten. Dabei reicherten sich die Aromastoffe in der Dampfphase an und traten erst nach Heben des Glasdeckels aus, wobei der Geruch geprüft werden konnte. Zur Geruchs- und Geschmacksprüfung stand weiterhin neben der Probe auch der beim Garen ausgetretene Fleischsaft in konzentrierter Form zur Verfügung, ein weiterer Vorteil gegenüber der konventionellen Kochprobe. Damit ist an den Einsatz dieser Zubereitungsmethode generell für sensorische Prüfungen von Fleisch zu denken.

Das Ergebnis der eigenen Triangeltests, daß die Proben der mit Legehennen-trockenkot gefütterten Tiere im allgemeinen nicht von denen der Kontrolltiere unterschieden werden konnten, wurde durch die sensorischen Untersuchungen anderer Autoren bestätigt (EL-SABBAN et al., 1970; CULLISON et al., 1976; GILKA et al., 1981 a). Die Tendenz, die sich bei der Auswertung der durch den Triangeltest selektierten Prüferurteile ergab und die bei den Kriterien Geruch, Geschmack, Struktur und Konsistenz eher eine Bevorzugung des Fleisches der mit Trockenkot gefütterten

Bullen aufzeigte, wurde auch von DE BOER (1980) bei einem von 6 Fütterungsversuchen in Bezug auf das Kriterium Geschmack festgestellt. Daraus sollte jedoch nicht abgeleitet werden, daß die Fütterung von Legehennentrockenkot die sensorische Fleischqualität grundsätzlich verbessert. Lediglich eine negative Auswirkung konnte mit Sicherheit ausgeschlossen werden, was letztlich ja auch der Fragestellung entsprach.

Die Technik der isoelektrischen Fokussierung wurde bisher im Bereich der Lebensmittelhygiene und -überwachung vorwiegend zur Tierartendifferenzierung sowie zum Nachweis von Verfälschungen von Fleisch- oder Milchprodukten mit artfremdem Eiweiß eingesetzt (FOHRLING und GERSONDE, 1980; KIRCHHOFF und RUBACH, 1980; KAISER et al., 1982). Die hohe Auflösung der Methode läßt die Anwendung auch bei Fragestellungen sinnvoll erscheinen, bei denen nur geringe Abweichungen im Proteinhinmuster zu erwarten sind. So kann mit Hilfe der Elektrofokussierung beispielsweise auch Schweinefleisch, das von verendeten und nachträglich ausgeschlachteten Tieren stammt, identifiziert werden (STOLLE et al., 1983).

Berichte über einen erhöhten Gehalt an Pigmentproteinen in Muskulatur von Bullen, gemästet mit Hühnertrockenkot (DOBICKI et al., 1979), sowie über eine veränderte Aminosäurezusammensetzung der Muskulatur (GRABOVENSKIJ und KALACHNJUK, 1980) wurden daher mit Hilfe der Elektrofokussierung überprüft.

Die eingesetzte Fokussierung in Ultradünnschichtgelen (UDIEF) hat den Vorteil der schnelleren Durchführbarkeit und der geringeren Materialkosten. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse war außerdem zufriedenstellend, wie auch FOHRLING und GERSONDE (1980) bestätigten. Die Fokussierung in Dünnschichtgelen (IEF) hatte dagegen den Vorteil der noch besseren Auflösung der Banden sowie einer sehr guten Reproduzierbarkeit.

Die Identifizierung der Proteine nur aufgrund ihrer Lage bei bestimmten pH-Werten war problematisch, da meist mehrere Eiweiße mit ähnlichen isoelektrischen Punkten in Frage kamen (RIGHETTI und CARAVAGGIO, 1976). Deshalb wurden die Banden im allgemeinen nur mit ihren isoelektrischen Punkten (I.P.) charakterisiert.

Die bei allen M. longissimus dorsi-Proben, unabhängig von der Fütterung, deutlich stärkere Bande mit dem I.P. 8.9, die eventuell zur Unterscheidung vom M. adductor benutzt werden könnte, kann von einem höheren Anteil an weißen Muskelfasern im Kotelett im Vergleich zum "Bewegungsmuskel" M. adductor der Keule herrühren. Weiße Muskelfasern besitzen einen hohen Gehalt glykolytischer Enzyme, dagegen geringe Myoglobingehalte (KOLB, 1980). Möglicherweise handelt es sich bei dieser Bande um das glykolytische Enzym Pyruvatkinase, das beim Rind den I.P. 8.9 aufweist (MALAMUD und DRYSDALE, 1978).

Obereinstimmend mit KAISER et al. (1982) unterschieden sich die Pherogramme der verschiedenen Organe deutlich voneinander. Bei den in den Leber-Pherogrammen aufgetretenen dicht zusammenliegenden Pigmentprotein-Banden handelte es sich, außer um Hämoglobin, wohl um dessen Abbauprodukte, wie Bilirubin und andere Gallenfarbstoffe. Im Gegensatz zu DOBICKI et al. (1979) konnten weder in den untersuchten Muskelextrakten noch in Organextrakten von mit Trockenkot gemästeten Tieren erhöhte Pigmentproteingehalte festgestellt werden. Auch auf die anderen löslichen Sarkoplasma-Proteine hatte die Trockenkotfütterung keinen erkennbaren Einfluß.

Die selektive Darstellung der Esterasen erfolgte, weil deren Aktivität in mit Pino- und Phagozytose befaßten histiozytären Elementen besonders hoch sein soll (LINDNER, 1962). Sie sind intrazellulär im endoplasmatischen Retikulum und in den Lysosomen lokalisiert (LOJDA et al., 1976).

Die saure Phosphatase kommt intrazellulär ebenfalls in Lysosomen vor. Reich an Lysosomen sind Zellen der Infektionsabwehr sowie mit Pinozytose befaßte Zellen (LOJDA et al., 1976). Im Gegensatz zu Befunden von SZUPERSKI et al. (1978), die erhöhte Enzymaktivitäten bei Bullen, die mit Zusatz von getrocknetem Schweinekot gefüttert worden waren, festgestellt hatten, konnten wir keine erhöhte Aktivität der Esterasen und der sauren Phosphatase in Leber oder Niere der Versuchstiere finden.

Die klinischen Laboruntersuchungen sollten Hinweise geben auf mögliche Funktionsstörungen oder degenerative Veränderungen, vor allem von Leber und Niere.

Bei den Serum-Harnstoffwerten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren. Der höhere NPN-Anteil in der Ration der mit Trockenkotzusatz gefütterten Tiere bestand überwiegend aus Harnsäure, die als schwerlösliche Substanz nicht zu plötzlich auftretenden hohen Ammoniakkonzentrationen im Pansen und damit zu hohen Harnstoffgehalten im Serum führte. Die Tendenz zu etwas höheren Harnstoffgehalten bei den Kontrolltieren weist eventuell darauf hin, daß die einzelnen Stickstoffverbindungen in der Ration der Versuchstiere in einer für die effiziente Umwandlung in mikrobielles bzw. tierisches Eiweiß günstigeren Kombination vorlagen als in der Ration der Kontrolltiere. Des weiteren war die Gesamtproteinaufnahme bei den Kontrolltieren etwas höher und somit auch die Ammoniak-Konzentration im Pansen. Dem entsprachen die Befunde von GILKA et al. (1978). Die Untersucher fanden bei Bullen, die mit Schweinekotzusatz gemästet worden waren, signifikant niedrigere Harnstoff-Spiegel im Serum. Dagegen lagen die Harnstoff-Serumwerte bei mit frischem Legehennenkot gefütterten Kälbern deutlich über denen der Kontrolltiere (SMITH et al., 1978 a), wahrscheinlich aufgrund höherer Ammoniak-Konzentrationen im Frischkot.

Die Aktivitäten von GOT, GPT und alkalischer Phosphatase im Serum unterschieden sich zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe nicht signifikant ebenso wie bei Untersuchungen von GILKA et al. (1981 a). Somit konnten Befunde von GRABOVENSKIJ und KALACHJUK (1980), wonach bei mit Geflügelkot gemästeten Bullen die Aktivität der GPT signifikant erhöht war, sowie Untersuchungen von SKUPERSKI et al. (1978), die erhöhte Aktivitäten der sauren und alkalischen Phosphatase bei mit Schweinekot-Zusatz gefütterten Bullen festgestellt hatten, nicht bestätigt werden.

Die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum hat diagnostische Bedeutung bei Erkrankungen des hepatobiliären Systems und Erkrankungen des Skelettsystems, die mit einem verstärkten Umbau von Knochensubstanz einhergehen (SCHMIDL, 1981).

Die Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) wird besonders zur Diagnose von Erkrankungen der Leber (auch toxische Schädigungen) und des Herzmuskels, sowie Läsionen der Skelettmuskulatur oder Myopathien eingesetzt (SCHMIDL, 1981).

Die Bestimmung der Aktivität der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) im Serum kann nicht nur Hinweise auf verschiedene Lebererkrankungen geben, sondern wegen des Vorkommens des Enzyms beim Rind auch in quergestreiften Muskelzellen auf Skelettmuskel-Läsionen oder Myopathien hindeuten (SCHMIDL, 1981).

Die flüchtigen Fettsäuren im Pansen sind Vergärungsprodukte der Kohlenhydrate und bilden die Hauptenergiequelle für den Wiederkäuer (KOLB, 1980). Von besonderer Bedeutung ist das in erster Linie fütterungsabhängige Acetat-Propionat-Verhältnis. Ein weites Verhältnis kann zu einer schlechteren energetischen Verwertung der Essigsäure (HOVELL et al., 1976) sowie zu höheren Energieverlusten im Vormagensystem führen (ØRSKOV et al., 1968). Es konnten signifikante Korrelationen zwischen absoluter Lebermasse und molarem Propionatanteil festgestellt werden (FLACHOWSKY und GEISSLER, 1978).

In Übereinstimmung mit CULLISON et al. (1976) wurden von uns bei den Versuchstieren niedrigere Gesamtkonzentrationen an flüchtigen Fettsäuren festgestellt. Das physiologisch bedeutende Verhältnis Essig-/Propionsäure wurde jedoch durch die Trockenkotfütterung nicht beeinflusst. Nur die verzweigten Fettsäuren zeigten an beiden Untersuchungstagen bei der Versuchsgruppe signifikant niedrigere Werte, was nach KOLB (1980) auf den höheren NPN-Anteil in der Ration zurückgeführt werden kann. Diese verzweigten Fettsäuren besitzen Bedeutung für die cellulospaltenden Pansenbakterien, die sie für die Biosynthese von Aminosäuren benötigen (KOLB, 1980).

Die erhobenen pathologisch-anatomischen Befunde ergaben in Übereinstimmung mit TIESENHAUSEN et al. (1978) keine Hinweise für eine Organschädigung durch die Legehennentrockenot-Fütterung. Dagegen stellten SZUPERSKI et al. (1978) bei Bullen, die mit Zusatz von getrocknetem Schweinekot gefüttert worden waren, Leber- und Nierendegenerationen sowie Schleimhautentzündungen des Labmagens fest.

Die relativ hohe Zahl von Abszeß-Lebern kann in Zusammenhang mit der Maissilagefütterung stehen. Die hierdurch möglicherweise bedingte

chronische, latente Pansenazidose führt zur Hyperkeratose und nachfolgender Nekrose der Pansenzottenspitzen, die dadurch für Eitererreger (Staphylokokken, Streptokokken) passierbar werden, welche über die Pfortader in die Leber gelangen (DIRKSEN, 1981).

Die bei einem hohen Prozentsatz der Tiere gefundenen Veränderungen in den Darmlymphknoten könnten ebenfalls mit dem Grundfutter in Zusammenhang stehen, zumal bei Bullen aus Normalschlachtungen bisweilen ähnliche Erscheinungsbilder auftreten (HAUSSERMANN, 1982). Doch auch schlachtechnisch bedingte Ursachen können nicht ausgeschlossen werden, wie etwa der Niederbruch der Tiere nach der Betäubung und dadurch bedingte Zerreißen kleinerer Gefäße im Einzugsbereich der Lymphknoten.

E.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Gegen die Verfütterung tierischer Exkremente bestehen weitverbreitete Vorbehalte. Diesen liegen vor allem subjektive Bewertungen, verbunden mit dem Wort "Kot", zugrunde. Geruch und Konsistenz des getrockneten Legehennenkotes sind jedoch so beschaffen, daß dieses Produkt sowohl vom Tier wie auch vom Menschen, der damit umgehen muß, akzeptiert werden kann.

Die quantitativ bedeutsame mikrobielle Flora des Trockenproduktes wird von hitzeselektierten, aeroben Sporenbildnern geprägt. Geringe Clostridienanteile können als unbedenklich angesehen werden, da sie auch in herkömmlichen Futtermitteln auftreten. Salmonellen sind im Trockenprodukt nicht mehr nachweisbar. Eine in geringen Anteilen vorkommende Rekontaminationsflora ist als unbedenklich anzusehen. Dem Vorhandensein einer selektierten Bazillenflora muß Beachtung geschenkt werden. Theoretisch muß auch mit Toxinbildnern gerechnet werden, die beim Zusammenwirken ungünstiger Faktoren in Einzelfällen durchaus zu gastro-intestinalen Störungen beim Nutztier führen könnten. Die überprüften isolierten Stämme gehören jedoch nicht zu dieser Gruppe und unterscheiden sich nicht wesentlich von den auch in der mitverfütterten Silage enthaltenen Stämmen.

Durch die Trockenkotfütterung ließen sich zwar qualitative und quantitative Veränderungen im Pansenmilieu ermitteln. Diese haben aber offensichtlich keinen Einfluß auf die Gesundheit der Tiere, besitzen jedoch möglicherweise fleischhygienische Relevanz. Es ist anzunehmen, daß Stoffwechsel- und Zerfallsprodukte bazillären Ursprungs (Bacteriocin-ähnliche Substanzen?) nach Resorption über die (möglicherweise durch eine latente Azidose vorgeschädigte) Pansenschleimhaut in den Körperkreislauf gelangen. Diese kämen als Ursache für falschpositive Hemmstoffbefunde in der Muskulatur bei negativen Nierenbefunden in Betracht.

Ein im 1. Versuch ermittelter Zusammenhang zwischen Legehennentrockenkotfütterung und unspezifischen Reaktionen beim Hemmstofftest war im 2. Versuchsansatz nicht zu bestätigen. Dieser Widerspruch kann durch eine andere Artzugehörigkeit der Bazillen der im 2. Versuch eingesetzten Trockenkotchargen bedingt gewesen sein.

Die im Trockenkot bei Anwendung von Extraktions- und Konzentrationsverfahren nachweisbare antibakterielle Aktivität im Hemmstofftest ist offenbar auf Stoffwechselprodukte der Bazillenflora zurückzuführen. Sie kann allenfalls Auswirkungen auf die Mikroökologie des Pansens haben. Diese waren allerdings so gering, daß keine ernährungsmäßigen Unterschiede feststellbar waren. Gesundheitliche Risiken für die Tiere, und damit auch für den Menschen, sind nicht zu befürchten.

Rückstände von zugelassenen Antibiotika sind weder im Trockenkot noch im Gewebe der Masttiere bei sachgerechter Anwendung zu erwarten.

Die Schwermetallgehalte im Trockenkot lagen unter den in der FMV, Anlage 5 (1981) angegebenen Grenzwerten (As, Pb), bzw. waren unerheblich (Cd). Eine Anreicherung von Schwermetallen in der Muskulatur der Masttiere ist nach Literaturangaben selbst nach Verfütterung hochbelasteter Trockenkot-Chargen nicht zu erwarten, dagegen muß in diesen Fällen mit einer gewissen Akkumulation dieser Substanzen in der Leber gerechnet werden.

Auch Pestizid-Rückstände im Trockenkot liegen nach Literaturangaben in der Regel unter den in der FMV, Anlage 5 (1981) angegebenen Grenzwerten. Die substantielle Fleischqualität einschließlich der sensorischen Beschaffenheit wird durch die Trockenkot-Fütterung nicht beeinflusst.

Die mit Trockenkot gefütterten Tiere zeigen weder klinische noch pathologisch-anatomische Krankheitsbilder, so daß sich die verwendeten Trockenkot-Chargen auch aus dieser Sicht als unbedenklich erweisen.

Ein gesundheitliches Risiko für Mensch oder Tier läßt sich also durch Verfütterung ordnungsgemäß gewonnener Legehennentrockenkot-Chargen nicht erkennen, ebensowenig zeigen sich negative Auswirkungen auf die substantielle Fleischbeschaffenheit. Deshalb können Einwände gegen eine Verwendung von Legehennentrockenkot als Ergänzungsfutter in der Rindermast nicht aufrechterhalten werden.

Eine Zulassung von getrocknetem Legehennenkot als Futtermittel müßte aber an eine Standardqualität mit laufender Kontrolle gebunden sein, die pathogene Mikroorganismen sowie zufällige Rückstände von Arzneimitteln und Schwermetallen ausschließt. Auch Einschränkungen hinsichtlich der Menge und Tierart wären denkbar, wie es bereits in vielen anderen Ländern mit Erfolg praktiziert wird.

F.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der industriemäßigen Legehennenhaltung fällt in großen Mengen Kot an. Die Problematik der Beseitigung dieser Abfälle ohne Umweltbelastung wurde in vielen Industrieländern durch Verfüttern dieser Abfälle nach Aufbereitung, vor allem an Wiederkäuer, gelöst. In der Bundesrepublik Deutschland ist die Verfütterung von Kot aufgrund der 3. Änd. VO zur FMV (1979), Anlage 6, verboten.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, die hygienische und rückstandsmäßige Unbedenklichkeit von Legehennentrockenkot als Ergänzungsfuttermittel in der Rindermast zu untersuchen. Deshalb wurden gesundheitliche Risiken für das Masttier sowie für den Verbraucher und substantielle Fleischqualitätsparameter geprüft.

Es wurden 2 Fütterungsversuche in der Zeit vom 29.1.1980 bis 11.5.1981 (Fütterungsversuch A) und 17.12.1981 bis 30.6.1982 (Fütterungsversuch B) mit insgesamt 45 schwarzbunten Jungbullern im Versuchsgut Marienfelde des Bundesgesundheitsamtes Berlin durchgeführt. Die insgesamt 30 Versuchstiere erhielten anstelle von Sojaextraktionsschrot eine isonitrogene Menge Legehennentrockenkot in granulierter Form, wie er in der Trommel-trocknungsanlage eines großen Legehennenbetriebes in der Bundesrepublik hergestellt wurde.

Die mikrobiologischen Untersuchungen erfaßten alle wesentlichen Keimgruppen der verfütterten Trockenkot- und Maissilage-Chargen sowie verschiedener Abschnitte des Magen- Darmtraktes der Mastbullen. Eine gezielte Erfassung von Bazillenstämmen aus Legehennentrockenkot, Maissilage und Magen- Darminhalt der Mastrinder wurde durchgeführt, nachdem bekannt war, daß die Mikroflora im industriemäßig getrockneten Legehennenkot im wesentlichen aus Bazillen besteht.

Auf mögliche Hemmstoffe als Rückstände aus der Fütterung wurden die Trockenkot- und Maissilage-Chargen sowie Muskulatur, Niere und Leber der Mastrinder untersucht. Dabei wurde neben dem Hemmstofftest nach Anlage 4 AB.A zum FIBG ein um die Testkeime *Mc. luteus* ATCC 9341 und *Mc. flavus* ATCC 10240 erweiterter Hemmstofftest durchgeführt. Zusätzlich zum direkten Aufbringen der Proben auf die Hemmstoffplatten wurden diese auch

nach Extraktion und Konzentration im Agardiffusions-Lochtest geprüft.

Die substantielle Beschaffenheit von Fleisch- und Organen der Mast-rinder wurde geprüft durch (1.) Bestimmung der physikalischen Fleisch-qualitätsparameter pH-Wert, Rigor und Wasserbindungsvermögen sowie analytische Bestimmungen von Gesamtwassergehalt und intramuskulärem Fettgehalt der Mm. adductor, longissimus dorsi und psoas major, (2.) sensorische Bewertung von rohen und mit Mikrowelle gegarten Roastbeef- und Filetproben mittels Triangeltest, gekoppelt mit einer bewertenden Prüfung, (3.) Darstellung von Protein- und Enzymmustern (Esterasen, saure Phosphatase) verschiedener Muskeln und Organe mittels isoelektrischer Fokussierung.

Klinische Laboruntersuchungen beinhalteten die Bestimmung von Harnstoff im Serum, die Bestimmung der Enzyme GOT, GPT und der alkalischen Phosphatase im Serum sowie der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft mittels Gaschromatographie.

Schließlich wurde bei der Schlachtung der pathologisch-anatomische Befund erhoben; bei einzelnen verendeten Tieren wurde der Sektionsbefund registriert.

In den Legehennentrockenkot-Chargen betrug der durchschnittliche Gesamtkeimgehalt $\bar{x} = 6.41$ ($\log n$) mit $s = 0.21$. Er wurde in allen Chargen von Bazillen bestimmt. Clostridien lagen mit $\bar{x} = 2.56$ niedrig, Salmonellen konnten in keinem Fall nachgewiesen werden. Die Gesamtkeimzahl der Maissilagen ($\bar{x} = 6.85$) wurde von Laktobazillen bestimmt. Bazillen stellten jedoch auch einen regelmäßigen Bestandteil der Mikroflora ($\bar{x} = 4.79$). Unter den aus den Trockenkotchargen isolierten Bazillenstämmen waren auch Lecithinase- und β -Hämolysen-bildende Stämme. Ein Teil der Isolate war in der Lage, antibiotische Substanzen (Bacteriocine?) zu bilden, die das Wachstum des Testkeimes des Hemmstofftests, *B. subtilis* BGA, hemmten. Die Identifizierung der Spezies im Referenzlabor des Institutes für Mikrobiologie der Universität Göttingen, Dr. Claus, ergab, daß 3 der Isolate als *B. licheniformis* und der Rest als *B. subtilis* einzustufen waren.

Die Gesamtkeimzahlen sowie die Anteile der mit den üblichen Prüfmetho-den erfaßbaren Keimgruppen waren in verschiedenen Abschnitten des Magen-Darmtraktes bei Versuchs- und Kontrolltieren nicht signifikant verschieden. In Pansen- und Caecuminhalt zeigte sich bei den mit Trockenkot

gefütterten Tieren ein erhöhter Bazillenanteil. Die Pansenmikroflora wurde durch die mit dem Trockenkot verstärkt zugeführten selektierten Bazillen beeinflusst. Das zeigte sich sowohl in quantitativer Hinsicht vor und nach Beginn der Trockenkotfütterung als auch in qualitativen Verschiebungen in der Pansenbazillenflora.

Bei den flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft - vor allem den verzweigten Fettsäuren - war bei den Versuchstieren eine Tendenz zu verringerten Gehalten festzustellen. Die ernährungsphysiologisch wichtigen Verhältnisse Essig- zu Propion- zu Buttersäure blieben jedoch unverändert.

Die Überprüfung der Trockenkotchargen mit dem üblichen Hemmstofftest nach Anlage 4 AB.A zum FIBG erbrachte negative Ergebnisse. Erst nach Extraktion und Konzentration des Probenmaterials konnten antimikrobielle Wirkungen festgestellt werden, die allerdings nicht auf enthaltene Antibiotika, sondern offensichtlich auf antibiotische Aktivitäten aus der Kotmikroflora zurückzuführen waren.

Auch bei der entsprechenden Überprüfung von Muskulatur traten teilweise positive bis zweifelhafte Hemmstoffbefunde bei Versuchstieren auf. Da eine therapeutische Applikation von Antibiotika aufgrund der kontrollierten Versuchstierhaltung sowie von Antibiotikaresten im Trockenkot aufgrund der Voruntersuchungen ausgeschlossen werden konnten, mußten die Resultate als unspezifische Hemmungen gewertet werden. Dabei zeigte sich bei dem 1. Fütterungsversuch eine Abhängigkeit dieser unspezifischen Reaktionen vom Bazillengehalt im Pansen der gleichen Versuchstiere.

Bei den Schwermetallgehalten lag Kupfer mit durchschnittlich 65.2 mg/kg auch für Legehennentrockenkot recht hoch. Die Gehalte an Arsen, Cadmium und Blei waren unbedenklich; lediglich eine Trockenkotcharge wies mit 22 mg/kg einen verhältnismäßig hohen Bleigehalt auf, der jedoch noch unter dem in der FMV, Anlage 5 (1981), angegebenen Grenzwert für vergleichbare Futtermittel lag.

Die substantielle Fleischqualität und die sensorischen Eigenschaften waren in keinem Fall bei den mit Trockenkot gefütterten Bullen gemindert. Vereinzelt zeigte sich sogar eine Tendenz einer verbesserten sensorischen Beschaffenheit.

Harnstoff- und Enzymgehalte im Serum zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren.

Auch die pathologisch-anatomischen Befunde lieferten keine Hinweise auf Schädigungen durch die Trockenkotfütterung.

Ein gesundheitliches Risiko für Mensch oder Tier ließ sich somit durch Verfütterung ordnungsgemäß gewonnener Legehennentrockenkot-Chargen nicht erkennen, ebenso wurden die substantielle Beschaffenheit und der Genußwert des Fleisches nicht gemindert.

Eine Zulassung von getrocknetem Legehennenkot als Ergänzungsfuttermittel für Wiederkäuer müßte an eine Standardqualität von zugelassenen Betrieben gebunden sein, die durch laufende Kontrollen überwacht werden. Insbesondere müßten die Hersteller darauf achten, daß Kot aus Therapiephasen der Legehennenbetriebe mit Antibiotika und anderen rückstandsbildenden Arzneimitteln nicht als Futtermittel verwendet werden darf.

G.

SUMMARY

When keeping cage layers industrially, excreta occur in large amounts. The problem of removing this waste without environmental pollution has been solved in many industrial countries; this waste was fed, after processing, especially to ruminants. In the Federal Republic of Germany the feeding of excreta is prohibited - "3.Änd. VO to Futtermittelverordnung", Anlage 6 (1979).

It was the interest of this work, to test the hygienical and residual harmlessnes of dried cage layer excreta (DCLE) as a feed ingredient for fattening beef cattle. Therefore, the health risks for both, animal and consumer and substantial meat quality were tested.

Two feeding experiments with a total of 45 young bulls (German "Schwarz-bunte") have been carried out at the experimental station of the "Bundesgesundheitsamt" Berlin; test (1) from 25.1.1980 - 11.5.1981 and test (2) from 17.12.1981 - 30.6.1982. Instead of sojaextraction meal, the 30 test-animals received an isonitrogene amount of granulated DCLE, as being produced in the dehydration-machine of a large cage layer factory in the Federal Republic of Germany.

Microbiological investigations seize all important bacteria groups of the fed dried excreta and cornsilage-batches, as well as different sections of the intestinal-tract of fattening-bulls. An aimed seizure of Bacillus-species from DCLE, cornsilage and contents of intestinal-tract of fattening beef cattle was carried out where it became known, that the microflora of industrial DCLE mainly consisted of bacilli.

Dried excreta- and cornsilage-batches as well as muscle, kidney and liver of the beef cattle have been examined of possible inhibition-substances as residues from the feeding. Besides of the inhibition-test (German "Hemmstofftest", Anlage 4 AB.A to "Fleischbeschaugesetz"), an extended inhibition-test was conducted around the test bacteria *Mc. luteus* ATCC 9341 and *Mc. flavus* ATCC 10240. Additional to the direct application of the sample onto the test-plate, those samples were tested after extraction and concentration within the "agar-diffusion-hole-test" as well.

The substantial condition of the meat and organs of fattening beef cattle was tested by: (1.) Determination of the physical meat quality parameters pH-value, rigor and the ability to retain water and the analytical determination of the total water-contents and the intramuscular fat-contents of the Mm. adductor, longissimus dorsi and psoas major, (2.) sensoric evaluation of raw and by microwave cooked roast-beef- and fillet-samples with the "triangle-test", linked with an evaluating examination, (3.) presentation of protein- and enzyme-patterns (esterases, acid phosphatase) of different muscles and organs by iso-electric focusing.

Clinical laboratory-examinations included the determination of urea within the serum, the determination of the enzymes GOT, GPT and alcalic phosphatase within the serum as well as of volatile fatty acids within the rumen-contents by gaschromatography.

Conclusively, the pathological-anatomical diagnosis was taken after slaughtering; by single perished animals the findings of post-mortem examinations were resgistered.

The average total bacteria count was in the DCLE-batches $\bar{x} = 6.41$ ($\log n$) with $s = 0.21$. Bacilli were mainly determined. Clostridiae were with $\bar{x} = 2.56$ low and salmonellae could be proved in no case. The bacteria-amount of cornsilage ($\bar{x} = 6.85$) was determined by lactobacilli. Lecithinase- and β -hemolysis forming strains could be found inbetween bacillus-species, isolated from dried-excreta-batches. A part of the isolates was able to produce antimicrobial substances (bacteriocins?), which inhibited the growth of the test-bacteria of the inhibition-test, *B. subtilis* BGA. The identification of the species, conducted in the reference-laboratory of the Institute for Microbiology of the University Göttingen (Dr. Claus) revealed, that 3 of the isolates could be grouped to *B. licheniformis* and the other to *B. subtilis*.

The total bacteria count as well as parts of bacteria groups, which were seized by common test-methods, were in different sections of the intestinal-tract on test- and control -animals not significantly different. The contents of rumen and caecum showed a higher bacilli-share on animals fed with dried excreta. The microflora of the rumen was influenced by increased selected bacilli, which were supplied with the

dried excreta. This became clear quantitatively before and after commencement of feeding dried excreta as well as in view of qualitative displacements within the microflora of the rumen.

Regarding the volatile fatty acids within the rumen content, - especially of the branched fatty acids, - a tendency to lower contents on test-animals could be determined. No changes showed the nutrition-physiological important ratio acetic acid/propion acid/butyric acid.

The check of the dried excreta batches with the common inhibition-test ("Hemmstofftest") showed negative results. Only after extraction and concentration of the test-material, antimicrobial reactions could be watched; though those could not be lead back to supplied antibiotics, but obviously to antibiotic activities out of the microflora of excreta.

At corresponding checking of the muscle tissue, partly positive to uncertain inhibition-test-results at test-animals occurred. As a therapeutical application of antibiotics, because of controlled keeping of test-animals, could be excluded, also rests of antibiotics within dried excreta because of pre-examinations, the results had to be valued as non-specific inhibitions. Hereby the first feeding-test showed a dependence of those non-specific reactions from bacilli-contents in the rumen of the same test-animals.

Out of the heavy metal contents was copper with an average of 62.5 mg/kg even for DCLE quite high. Contents of arsenic, cadmium and lead were harmless; only one DCLE-batch had with 22 mg/kg a relative high content of lead; it was though below the limiting value for comparable feed, as mentioned in the "Futtermittelverordnung", Anlage 5 (1981).

The substantial meat quality and their sensoric characteristics were in no case diminished at bulls fed DCLE. In some cases a tendency for a better sensoric condition seemed to occur.

Urea- and enzyme-contents of the serum showed no significant differences between test- and control -animals.

The pathologic-anatomical results gave no indication of damages by feeding DCLE either.

Therefore, health risks for man or animal could not be discovered by feeding orderly taken DCLE-batches. The substantial quality and palatability of the meat was not reduced.

The permission of DCLE as supplement-feed for ruminants should be bound to a standardised quality of admitted factories, which are to be controlled continuously. The producer would have to take special care, that excreta, while hens were during therapy-phases treated with antibiotics and other residual-active medicine, may not be used as feed.

H.

LITERATURVERZEICHNIS

AINSWORTH, G.C., BROWN, A.M. & G. BROWNLEE

"Aerosporin", an antibiotic produced by *Bacillus aerosporus* Greer

Nature 160, 263 (1947)

ALEXANDER, D.C., CARRIERE, J.A.J. & K.A. MCKAY

Bacteriological studies of poultry litter fed to livestock

Can. Vet. J. 9, 127 - 131 (1968)

ALI-SEID, N.

Überprüfung der Aussagekraft von derzeit gebräuchlichen Arbeitsverfahren zur Erfassung der Fleischqualität bei Rinderschlachttierkörpern aus einer Tiergruppe mit stressarmen Haltungs- und Transportbedingungen und einer Tiergruppe aus Normalschlachtungen

Vet. med. Diss. FU Berlin 1983

ALI-YRKKÖ, S. & M. ANTILA

Beobachtungen über den Clostridiengehalt der finnischen Silage und des Kuhmistes

Milchwissenschaft 30, 753 - 759 (1975)

BAADER, W. SCHUCHARDT, F. & H.H. THEUNE

Aufbereitung von Hühnerkot zur Gewinnung umweltverträglicher Dünger und schadloser Futterzusätze

Abschlußbericht eines Forschungsvorhabens der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig (1977)

BANSE, H.J., FARKASI, G., KNOLL, K.H. & D. STRAUCH

Kompostierung von Siedlungsabfällen

Städtetag 20, 408 - 410 (1967)

BERKEL, H. & R. HADLOK

Lecithinase- und Toxinbildung durch Stämme der Gattung
Bacillus

Arch. Lebensmittelhyg. 27, 63 - 65 (1976)

BERKOWITZ, J.H., KRAFT, D.J. & M.S. FINSTEIN

Persistence of salmonellae in poultry excreta

J. Environ. Qual. 3, 158 - 161 (1974)

BHATTACHARYA, A.N. & J.C. TAYLOR

Recycling animal waste as a feedstuff: A review

J. Anim. Sci. 41, 1438 - 1457 (1975)

BIELY, J., SOONG, R. & L. SEIER

Dehydrated poultry waste in poultry rations

Poultry Sci. 51, 1502 - 1511 (1972)

BINKO, K.

Zur Intensivierung der Rückstandskontrolle

Arch. Lebensmittelhyg. 33, 27 - 30 (1982)

BODRERO, K.O., PEARSON, A.M. & W.T. MAGEE

Optimum cooking times for flavor development and evaluation of flavor quality of beef cooked by microwaves and conventional methods

J. Food Sci. 45, 613 - 616 (1980)

BONTE, W. & G. BODE

Examination of proteins and enzymes in native tissue by histoelectrofocusing in polyacrylamide gel

Science Tools, LKB Instrument J. 28, 1 - 3 (1981)

BOSTEDT, H.

Über die Bedeutung von Enzymaktivitätsbestimmungen im Blut von Großtieren für die Diagnose bestimmter Krankheitskomplexe

Diagnostica dialog H. 3, S. I - V (1982)

Boehringer Mannheim GmbH

BRADLEY, D.E.

Ultrastructure of bacteriophages and bacteriocins

Bact. Rev. 31, 230 - 314 (1967)

BRANDIS, H.

Bakteriocine als Faktoren des Bakterienantagonismus

Bundesgesundheitsblatt 22, 252 - 256 (1979)

BREED, R.S., MURRY, E.G.D. & N.R. SMITH

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology

7. Auflage

The Williamy and Wilkins Company, Baltimore (1957)

BRUGMAN, H.H., DICKEY, H.C., PLUMMER, B.E. & B.R. POULTON

Nutritive value of poultry litter

J. Anim. Sci. 23, 869 (1964)

BRUGMAN, H.H., DICKEY, H.C., PLUMMER, B.E., GOATER, J., HEITMAN, R.N.
& M.R.Y. TAKA

Drug residues in lamb carcasses fed poultry litter (Abstr.)

J. Anim. Sci. 27, 1132 (1968)

BRUHN, J.C., REIF, G.D. TOONE, H. & J.H. EVANS

Influence of feeding dehydrated poultry waste on composition and organoleptic quality of milk

J. Food Protect. 40, 29 - 31 (1977)

BUCHOLTZ, H.F., HENDERSON, H.E., THOMAS, J.W. & H.C. ZINDEL

Dried animal waste as a protein supplement for ruminants

Am. Soc. Agricult. Engineers Publ. Proc. Nr. 271, 308 - 310 (1971)

BUGDOL, G. & A. BRANDAU

Ergebnisse des Einsatzes von getrocknetem Legehennenkot
in der Mastbullenfütterung

Tierzucht 26, 295 - 296 (1972)

CASWELL, L.F., FONTENOT, J.P. & K.E. WEBB jr.

Effectiveness of various processing methods for the
pasteurization of broiler litter

Livestock Research Report Nr. 145, 61 (1971-72)

Virginia Polytechnic Institute and State Univ., Blacksburg

CHANG, T.S., CURRIGAN, D.J., MURPHY, D.W. & H.C. ZINDEL

Microbiological analysis of poultry anaphage

Poultry Sci. 53, 1242 - 1245 (1974)

CHASTAIN, M.F., HUFFMAN, D.L. & S. BERTRAM

Sensory evaluation of forage- and grain-fed beef

J. Food Sci. 47, 340 - 341 (1981)

CLAYBAUGH, J.W.

Cage waste silage: For the smaller farmer or the complex -
hens and cattle can compliment each other

DEKALB AgResearch, Inc., Illinois, USA, poultry division,
Firmenmitteilung Aug. 1975

COHEN, A. & R. TAMARIN

Investigations of two mass outbreaks of a botulism-like
disease in cattle

IV. Bacteriological investigations

Refuah vet. 35, 93 - 99 (1978)

COUCH, J.R.

Feeding poultry manure to animals

Feedstuffs 44, 25 - 26 (1972)

COWAN, S.T. & K.J. STEEL

Manual for the identification of medical bacteria

2. Auflage

Cambridge University Press (1974)

CREGER, C.R., GARDNER, F.A. & F.M. FARR

Broiler litter silage for fattening beef animals

Feedstuffs 45, 25 (1973)

CROSS, H.R. & D.A. DINIUS

Carcass and palatability characteristics of beef steers
finished on forage diets

J. Anim. Sci. 47, 1265 - 1271 (1978)

CROSS, D.L., SKELLEY, G.C., THOMPSON, C.S. & B.F. JENNY

Efficacy of broiler litter silage for beef steers

J. Anim. Sci. 47, 544 - 551 (1978)

CULLISON, A.E., McCAMPELL, H.C., CUNNINGHAM, A.C., LOWREY, R.S., WARREN,
E.P., McLENDON, B.D. & D.H. SHERWOOD

Use of poultry manures in steer finishing rations

J. Anim. Sci. 42, 219 - 228 (1976)

De BARJAC, H. & J. LAJUDIE

Mise en évidence de facteurs antagonistes du type des
bactériocines chez *Bacillus thuringiensis*

Ann. Microbiol. 125 B, 529 - 537 (1974)

De BOER, F.

Dried poultry manure (DPM) in Dutch ruminant feeding

Kongressbericht: Livestock waste, a renewable resource,
Amarillo, Texas, USA, 22 - 26 (1980)

De BOER, F.

Persönliche Mitteilung (1981)

DIRKSEN, G.

Indigestionen beim Rind

Schnetztor-Verlag, Konstanz (1981)

DOBICKI, A., PRES, J. & T. SZULC

Anwendung von getrocknetem Hühnermist für die Mast
von Jungrindern (poln.)

Rocz. Nauk rolniczych, Ser. B, Warszawa 99, 17 - 28 (1979)

Ref. Landw. Zbl. IV, 25, 1688 (1980)

DOLAN, C.

It isn't chicken feed, but it is end product of a lot
of research

Washington Post, Aug. 1981

DORN, P. & P. KRABISCH

Experimentelle Untersuchungen zur Salmonellen-Bekämpfung
bei Mastkühen durch Substitution der Darmflora

Dtsch. tierärztl. Wschr. 88, 54 - 59 (1981)

DRYDEN, F.D. & J.A. MARCHELLO

Influence of total lipid and fatty acid composition
upon the palatability of three bovine muscles

J. Anim. Sci. 31, 36 - 41 (1970)

EGYED, M.N.

Toxicological and public health significance of chemical
and medicinal residues in poultry waste fed to livestock

Refuah vet. 35, 117 - 122 (1978)

EGYED, M.N., SHLOSBERG, A., KLOPFER, U., NOBEL, T.A. & E. MAYER

Mass outbreaks of botulism in ruminants associated with
ingestion of feed containing poultry waste

I. Clinical and laboratory investigations

Refuah vet. 35, 93 - 99 (1978 a)

EGYED, M.N., KLOPPER, U., NOBEL, T.A., SHLOSBERG, A., TADMOR, A.,
ZUKERMAN, I. & J. AVIDAR

Mass outbreaks of botulism in ruminants associated
with ingestion of feed containing poultry waste

II. Experimental investigation

Refuah vet. 35, 100 - 115 (1978 b)

EL-SABBAN, F.F., LONG, T.A., GENTRY, R.F. & D.E.H. FREAR

The influence of various factors on poultry litter
composition

Proc. Management of farm animal wastes, Nat. Symp.

340 (1969) Zit. n. Bhattacharya, A.N. und J.C. Taylor
(1975)

EL-SABBAN, F.F., BRATZLER, J.W., LONG, T.A., FREAR, D.E.H. &
R.F. GENTRY

Value of processed poultry waste as a feed for ruminants

J.Anim. Sci. 31, 107 - 111 (1970)

ERNST, W. & E. WOLTER

Erhöhung der Rindfleischproduktion durch Einsatz von
Broilertiefstreu und Landgeflügelkot als zusätzliches
hochwertiges Rindermastfutter

Tierzucht 24, 451 - 454 (1970)

FARKASDI, G., KNOLL, K.H., NIESE, G., MENKE, G. & D. STRAUCH

Hygienische und biologische Effektivität von Rottetürmen
bei der Kompostierung von Siedlungsabfällen

müll und abfall 1, 21 - 27 (1971)

FELKL, H. & W. ZIMMERHACKEL

Der Einsatz von Broiler- und Junghennentiefstreu
als Futtermittel in der Jungbullenmast

Tierzucht 26, 11 (1972)

FELKL, H., GELFERT, G. & G. SCHELLNER

Erschließung und Nutzung von getrocknetem Hühnerkot
als echte Futterreserve in der Rindermast

Tierzucht 28, 568 - 571 (1974)

FLACHOWSKY, G., GEISSLER, C. & H.J. LÖHNERT

Untersuchungen zum Einsatz von dekantierten Fest-
stoffen der Schweinegülle in der Mastrinderernährung
III. Pansenphysiologische Kenndaten und Ausschachtungs-
ergebnisse

Archiv für Tierernährung 27, 225 - 233 (1977)

FLACHOWSKY, G. & C. GEISSLER

Der Einfluß unterschiedlicher Anteile von Weizenstroh
und Feststoffen der Schweinegülle in Pellets von Mast-
rindern verschiedener Genotypen auf die Magenfüllung
und einige pansenphysiologische Kennwerte

Wiss. Zschr. Karl - Marx - Univ. Leipzig, Math. - Nat.
R. 27, 153 - 159 (1978)

FLATSCHER, J. & H. WILLINGER

Bakterien- und Pilzkeimzahlen in Futtermitteln

Wien. tierärztl. Mschr. 68, 282 - 284 (1981)

FONTENOT, J.P., WEBB, K.E., HARMON, B.W., TUCKER, R.E. & W.E.C. MOORE

Studies of processing, nutritional value and palatability
of broiler litter for ruminants

Internat. Symp. on livestock waste, Columbus, Ohio,
ASAE Pub. Proc. 271, 301 (1971 a)

FONTENOT, J.P., WEBB, K.E., LIBKE, K.G. & R.J. BUEHLER

Performance and health of ewes fed broiler litter

J. Anim. Sci. 33, 283 (1971 b)

FONTENOT, J.P. & K.E. WEBB jr.

The value of animal wastes as feeds for ruminants
Feedstuffs 46, 30 - 31 (1974)

FOX, P.F. & J.J. CONDON

Food proteins

Applied Science Publishers, London and New York, 1982

FREUDENREICH, P., SCHÖN, L. & J. SCHEPER

Untersuchungen über die Beschaffenheit von Kalb- und
Jungbullenfleisch

1. Mittl.: Tiermaterial, Farbhelligkeit und pH-Wert
Fleischwirtsch. 60, 1721 - 1725 (1980)

FÖHRLING, D. & C. GERSONDE

Erfahrungen mit der Isoelektrischen Fokussierung bei
der Tierartenbestimmung

Lebensmittelchem. gerichtl. Chem. 34, 135 - 138 (1980)

FULLER, A.T.

A new antibiotic of bacterial origin

Nature 175, 722 (1955)

GANCZAREK, M.

Veterinärhygienische Aspekte der Anwendung von Trockengut
aus Tiefstreu, angereichert mit Kot für Futterzwecke im
Kombinat der Staatsgüter der Wojewodschaft Opole (poln.)

Nowe Rolnictwo, Warszawa 28, 20 -21 (1979)

GEDEK, B.

Zur schädigenden Wirkung stark keimhaltiger Futtermittel

Tierärztl. Umschau 25, 335 - 342 (1970)

GEMMER, H., SEEGER, H. & W. SCHALE

Beurteilung von Tetracyclin-Rückständen in Knochen von Schlachttieren

Fleischwirtsch. 53, 1598 - 1599 (1973)

GILKA, J., MATYAS, Z., JUGR, I. & O. ZATOCIL

Carcass value and the composition of meat from steers fed a diet containing processed swine waste

Acta Vet. Brno 47, 103 - 112 (1978)

GILKA, J., BARTOS, J., GAJUSKOVA, V., MALIKOVA, M., MASEK, J. & Z. MATYAS

Vorkommen von fremdartigen Stoffen in Lebensmitteln tierischer Herkunft von den mit einer Zugabe von tierischen Exkrementen gefütterten Tieren (tschech.)

Veter. Med., Praha 25, 179 - 192 (1980)

GILKA, J., HABRDA, J., JANKOVA, B., KREJCI, P., SIC, J., SALANSKY, I. & Z. MATYAS

Schlachteigenschaften und Fleischqualität der mit Exkrementen zugefütterten Bullen (tschech.)

Veter. Med., Praha 26, 637 - 650 (1981 a)

GILKA, J., BARTOS, J., GAJDUSKOVA, V., MALIKOVA, M., MASEK, J., SIC, J. & Z. MATYAS

Fremdartige Stoffe in Fleisch und Organen von Bullen, die mit Schweine- und Geflügelexkrementen gefüttert worden waren (tschech.)

Veter. Med., Praha 26, 651.- 660 (1981 b)

GILLIS, M.T.

Animal feeds from waste materials
Food Technology Review No. 46

Noyes Data Corporation, Park Ridge, New Jersey, USA (1978)

GRABOVENSKIJ, I.I. & G.I. KALACHNJUK

Biochemische Blut- und Fleischcharakteristika bei der
Verfütterung von Geflügelkot und Harnstoff an Jungbullen
(russ.)

Ref. Landw. Zbl. IV, 25, 2201 (1980)

GRAU, R.

Fleisch und Fleischwaren, Band 7

Verlag A.W. Hayn's Erben, Berlin SO 36, 1960

GRIEL, L.C., KRADEL, D.C. & E.W. WICKERSHAM

Abortion in cattle associated with the feeding of
poultry litter

Cornell Vet. 59, 226 (1969)

GRUGEL, F.

Diplomarbeit, Sektion Tierproduktion der Universität
Rostock (1970)

Zit. n. Hennig, A. & S. Poppe (1976)

HACKING, A., DERVISH, M.T. & W.R. ROSSER

Available amino acid content and microbiological con-
dition of dried poultry manure

Br. Poultry Sci. 18, 443 - 448 (1977)

HARMON, B.W., FONTENOT, J.P. & J.K. WEBB

Ensiled broiler litter and corn forage

I. Fermentation characteristics

J. Anim. Sci. 40, 144 - 155 (1975)

HARRISON, D.L.

Microwave versus conventional cooking methods: Effects
on food quality attributes

J. Food Protect. 43, 633 - 637 (1980)

HÄUSSERMANN, E.

Persönliche Mitteilung (1982)

HEINERT, H.H., van der WALL, G. & H. BREHMER

Lysozym - Ursache von unspezifischen Reaktionen
im mikrobiologischen Hemmstofftest

Arch. Lebensmittelhyg. 27, 55 - 60 (1976)

HENNING, A. & S. POPPE

Abprodukte tierischer Herkunft als Futtermittel

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1976

HOLDEMANN, L.V. CATO, E.P. & W.E.C. MOORE

Anaerobe laboratory manual

4. Auflage

V.P.I. Anaerobe Laboratory Virginia Polytechnic Institute
and State University P.O. Box 49, Blacksburg, Virginia,
1977

HONIKEL, K.O. & W. WOLTERS DORF

Elektrostimulierung: Biochemische und kolloidchemische
Veränderungen in Rindermuskeln

Fleischwirtsch. 62, 440 - 447 (1982)

HOVELL, F.D. GREENHALGH, J.F.D. & F.W. WAINMAN

The utilization of diets containing acetate salts by
growing lambs as measured by comparative slaughter and
respiration colorimetry together with rumen fermentation

Brit.J.Nutr. 35, 343 - 352 (1976)

IGLEWSKI, W.J. & N.B. GERHARDT

Identifikation of an antibiotic-producing bacterium
from the human intestinal tract and characterisation
of its antimicrobial product

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 13, 81 - 89 (1978)

IMPEY, C.S., MEAD, G.C. & S.M. GEORGE

Competitive exclusion of salmonellas from the chick
caecum using a defined mixture of bacterial isolates
from the caecal microflora of an adult bird

J. Hyg. Camb. 89, 479 - 490 (1982)

JOHNSON. B.A., ANKER, H. & F.L. MELENEY

Bacitracin: A new antibiotic produced by a member
of the B. subtilis group

Science 102, 376 - 377 (1945)

KAISER, K.P., MATHEIS, G., SCHWEIGER-RECKNAGEL, D. & H.D. BELITZ

Proteindifferenzierung mit elektrophoretischen Methoden
bei Fleisch, Fisch und abgeleiteten Produkten
IV. Untersuchungen von rohem Wurstbrät und Innereien
durch isoelektrisches Focussieren in Polyacrylamidgel
unter Verwendung von Fertigplatten und selbstgegossenen
Platten

Z. Lebensm. Unters. Forsch. 174, 13 - 17 (1982)

KIRCHHOFF, E. & K. RUBACH

Differenzierung der Proteinfractionen von Lebensmitteln
pflanzlicher und tierischer Herkunft

Lebensmittelchem. gerichtl. Chem. 34, 27 - 28 (1980)

KLINGER, I. & H. TAGARI

Ensiling as a means of decontaminating poultry litter
prior to its feeding to ruminants

Refuah vet. 33, 63 - 71 (1976)

KÖHLER, B. VOGEL, K. & P. STAROST

Nekrotisierende und ulzerative Enteritis bei Hühnern
der Mast- und Legerichtung unter den Bedingungen industrie-
mäßiger Geflügelproduktion

Mhefte Vet.-Med. 32, 704 - 711 (1977)

KOLB, E.

Lehrbuch der Physiologie der Haustiere
Teil I, 4. Auflage

Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1980)

KRAFT, D.J., OLECHOWSKI-GERHAEDT, J. BERKOWITZ, J. & M.S. FINSTEIN

Salmonella in wastes produced at commercial poultry
farms

Appl. Microbiol. 18, 703 - 707 (1969)

LANGNER, H.J. & U. TEUFEL

Der chemische und mikrobiologische Nachweis von Anti-
biotika

1. Mitt.: Dünnschichtchromatographische Trennung ver-
schiedener Antibiotika

Fleischwirtsch. 52, 1610 - 1614 (1972)

LAWRIE, R.A.

Fleischkunde

BLV Verlagsgesellschaft München, Basel, Wien, 1970

LEIBETSEDER, J.

Persönliche Mitteilung (1981)

LINDNER, J.

Die Morphologie der Wundheilung

Langenbeck's Arch. Klin. Chir. 301, 39 - 70 (1962)

LOFTSGAARD, G. BRISKEY, J.E. & C. OLSON

Use of concentrated extracts for microbiological assays
of Penicillin residues in porcine tissues

Am. J. Vet. Res. 28, 167 - 172 (1967)

LOJDA, Z., GROSSRAU, R. & T.H. SCHIEBLER

Enzymhistochemische Methoden

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1976

LOVETT, J., MESSER, W. & R.B. READ jr.

The microflora of southern Ohio poultry litter

Poultry Sci. 50, 746 - 751 (1971)

LOWITZ, U. & J. KRÄMER

Bacteriocin-ähnliche Hemmstoffe von *Streptococcus faecium*
und *Streptococcus lactis*

1. Symp. Lebensmittelmikrobiologie "Grenzkeimzahlen"
der Deutschen Ges. für Hyg. u. Mikrobiol. (DGHM) u. der
Deutschen Vet. Med. Gesellschaft (DVG), Aachen, 7.-8.4.1983

LYSENKO, V., VOROB'EV, S., TISHENKOV, A., IRUSHKIN, I., GOLOVACHEV, A.,
TURUKINA, A., KOZLOVA, N. & V. MALOFEEV

Einfluß des Temperaturregimes bei der Trocknung auf die
Qualität des Trockenkotes (russ.)

Ekspress Inform., Moskva 3, 21 - 23 (1977)

Ref. Landw. Zbl. IV, 24, 144 (1979)

MAKI, L.R. & K. PICARD

Normal intestinal flora of cattle fed high-roughage
rations

J. Bact. 89, 1244 - 1249 (1965)

MALAMUD, D. & J.W. DRYSDALE

Isoelectric points of proteins: A table

Anal. Biochem. 86, 620 - 647 (1978)

MARX, M.

Untersuchungen zur Mikrobiocoenose von Lebensmittel-
mikroorganismen

Vet. med. Diss. FU Berlin (1972)

McCASKEY, T.A. & W.B. ANTHONY

Health aspects of feeding animal waste conserved in silage
Managing Livestock Wastes, Proc. 3, 230 - 233 (1975)
Intern. Symp. Livestock Wastes, Michigan, USA, 1975

MEREGALLI, A., OLIVETTI, A., ANTONGIOVANNI, M., GUALTIERI, M. & O.
BIAGIOLI

Further studies on feeding beef cattle on rations with
dried poultry manure; production of heavy calves
Aliment. Anim. 16, 21 - 23 (1972)

MESSER, J.W., LOVETT, J., MURTHY, G.K., WEHBY, A.J., SCHAFER, M.L. &
R.B. READ

An assessment of some public health problems resulting
from feeding poultry litter to animals; microbiological
and chemical parameters
Poultry Sci. 50, 874 - 881 (1971)

MIERSCH, K.

Hygienische Untersuchungen zur Bewertung von Kompostie-
rungsverfahren hinsichtlich der Aufbereitung von Ab-
fällen aus dem kommunalen und landwirtschaftlichen Be-
reich
Diss. agr. Hohenheim (1975)

MIKULIK, A., DOBES, M. & M. VAVROVA

Die Eigenschaften des Fleisches von Bullen, deren Futter
Schweineexkremente beigemischt wurden
25. Europ. Fleischforscher Kongr., Budapest, 1979
Ref. Fleisch 34, 48 (1980)

MITRUKA, B.M.

Methods of detection and identification of bacteria
CRC Press, Inc., 18901 Cranwood Parkway, Cleveland, Ohio
1976

MIURA, H., HORIGUCHI, M. & T. MATSUMOTO

Nutritional interdependence among rumen bacteria
Bacteroides amylophilus, *Megasphaera elsdenii* and
Ruminococcus albus

Appl. Environ. Microbiol. 40, 294 - 300 (1980)

MORENO, B., CALLES, A. & V. DIETZ

Influence of pH and lactic acid on occurrence of non-specific zones of growth inhibition during determination of antibiotic residues in chicken muscle

J. Food Protect. 43, 558 - 560 (1980)

MÜLLER, W.

Hygiene landwirtschaftlicher und kommunaler Abfallbeseitigungssysteme

Hohenheimer Arbeiten 69, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1973

NEUMANN, G.

Analytische Elektrofokussierung

G-I-T Fachzshr. für das Laboratorium H. 11, 1212 - 1217 (1976)

NIINIVAARA, F.P. & P. ANTILA

Der Nährwert des Fleisches

Fleischforschung und Praxis, Schriftenreihe H. 8

Verlag der Rhein Hessischen Druckwerkstätte Alzey, 1972

NOTERMANS, S., van ERNE, E.H.W., BECKERS, H.J. & J. OESTEROM

Beurteilung des bakteriologischen Status frischen Geflügels in Läden und auf Märkten

Fleischwirtsch. 61, 131 - 134 (1981)

NURMI, E. & M. RANTALA

New aspects of Salmonella infection in broiler production

Nature 241, 210 - 211 (1973)

ØRSKOV, E.R., FLATT, W.P. & P.W. MOE

Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants

J. Dairy Sci. 51, 1429 - 1435 (1968)

PEDERSEN, H.

The use of concentrated extracts from tissues in the determination of Penicillin and Tetracyclines in slaughtered poultry, to which fodders containing antibiotics have been fed

Royal Vet. and Agricult. Coll., Copenhagen, Yearbook, 33 -60 (1965)

PERLMAN, D. & M. BODANSKY

Biosynthesis of peptide antibiotics

Ann. Rev. Biochem. 40, 449 - 464 (1971)

PLATZ, S. & S. MATTHES

Die Heißbrötchen als Möglichkeit zur Gewinnung hygienisch unbedenklichen Geflügelkompostes und dessen Verwertung als Tierfutter

Prakt. Tierarzt 58, 352 - 359 (1977)

REEVES, P.

The Bacteriocins

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1972)

REUTER, G.

Untersuchungen zur antagonistischen Wirkung der Milchsäurebakterien auf andere Keimgruppen der Lebensmittel-flora

Zbl. Vet. Med. B 19, 320 - 334 (1972)

ders.

Zur Systematik hygienisch und technologisch wichtiger Bakterien in der Milchwirtschaft

Dtsch. Molkerei-Z. 94, 644 - 655 (1973)

REUTER, G., TROEGER, K. & G. WACHELAU

Fleischhygienische Aspekte zum Einsatz von
industriell getrocknetem Legehennenkot

Fleischwirtsch. 61, 1191 - 1198 (1981)

REUTER, G.

Verfahren zur Erkennung von Fleischqualitätsab-
weichungen bei Schlachttierkörpern

Fleischwirtsch. 62, 1153 - 1160 (1982)

RIGBY, C.E. & J.R. PETTIT

Observations on competitive exclusion for preventing
Salmonella typhimurium infection of broiler chickens

Av. Dis. 24, 604 - 608 (1980)

RIGHETTI, P.G. & T. CARAVAGGIO

Isoelectric points and molecular weights of proteins

I. Chromatogr. 127, 1 - 28 (1976)

RÖMMELE, O., SCHAPER, A. & I.G. van der WALL

Ein praktisches Gerät zur dokumentarischen Feststellung
des pH - Wertes, der Durchsäftung und des Blutgehaltes
von Fleisch- und Fleischwaren

Fleischwirtsch. 41, 208 - 209 (1961)

RONCARI, G. KURYLO-BOROWSKA, Z. & L.C. CRAIG

On the chemical nature of antibiotic Edeine

Biochemistry 5, 2153 - 2159 (1966)

ROYAL, W.A. & M.D. MUTIMER

Inhibition of Salmonella typhimurium by fowl caecal
cultures

Res. vet. Sci. 13, 184 - 185 (1972)

RUIZ, A. & M.E. RUIZ

Accumulation of potentially dangerous drugs in the carcass of animals fed high levels of poultry litter
J. Anim. Sci. 49, 177 - 178 (1979)

SAVIR, D.

Mass outbreaks of botulism in ruminants associated with ingestion of feed containing poultry waste
III. Epidemiologic findings
Refuah Vet. 35, 105 - 109 (1978)

SCHEPER J. & C. FISCHER

Über das Auftreten von PSE- und DFD-Veränderungen bei Jungbullen unter Marktbedingungen
Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e.V. und der Gesellschaft für Tierzuchtwissenschaft "Aus der Arbeit der Forschungsstätten für Tierproduktion" Stuttgart (1978)

SCHETTLER, C.H.

Cl. Botulinum Typ C - Intoxikationen bei Broilern in Nordwestdeutschland
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 50 - 57 (1979)

SCHMIDL, M.

Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle in der Veterinärmedizin
Boehringer Mannheim GmbH, 1978, 2. Auflage 1981

SCHMIDT U., WOLTERS DORF W., LINKE H. & L. LEISTNER

Nachweis von Rückständen in Schlachttierkörpern von Kälbern nach nutritiver Verabreichung von Chlortetracyclin, Oxytetracyclin u. Zinkbacitracin
Fleischwirtsch. 54, 513 - 520 (1974)

SCHMIDT, U. & W. WOLTERS DORF

Nachweis von Rückständen in Schlachttierkörpern von
Schweinen nach Verabreichung von Chlortetracyclin und
Zinkbacitracin mit dem Futter

Fleischwirtsch. 54, 520 - 526 (1974)

SCHOTHORST, M.

Nachweis und Identifizierung einiger Antibiotika bei
Schlachttieren

Fleischwirtsch. 50, 1085 - 1087 (1970)

SHEPPARD, C.C., FLAGEL, C.J., DORN, D. & J.L. DALE

The relationship of drying temperature to total
crude protein in dried poultry waste

Michigan State Univ. Agr. Exp. Station Res. Rep.
No. 152, 12 (1971)

Zit.n. Bhattacharya, A.N. & J.C. Taylor (1975)

SHAFIA, F.

Thermocins of *Bacillus stearothermophilus*

J. Bact. 92, 524 - 525 (1966)

SIEWERT, E. & B. SAGA

Untersuchungen zur qualitativen Analytik von
Antibiotikarückständen

Vetmed - Berichte 1, (1979), Schriftenreihe des
Inst. f. Vet.-medizin des BGA
Dietrich Reimer Verlag, Berlin

SKARNES, R.C. & D.W. WATSON

Antimicrobial factors of normal tissues and fluids

Bact. Rev. 21, 273 - 294 (1957)

SKELLEY, G.C., EDWARDS, R.L., WARDLAW, F.B. & A.K. TORRENCE

Selected high forage rations and their relationship
to beef quality, fatty acids and amino acids

J. Anim. Sci. 47, 1102 - 1108 (1978)

SMITH, L.W.

Dehydrated poultry excreta as a nitrogen supplement
for ruminants (Abstr.)

J. Anim. Sci. 39, 139 (1974)

SMITH, O.B., MACLEOD, G.K., MOWAT, D.N., FOX, C.A. & E.T. MORAN jr.

Performance and health of calves fed wet caged layer
excreta as a protein supplement

J. Anim. Sci. 47, 833 - 842 (1978 a)

SMITH, O.B., MACLEOD, G.K. & W.R. USBORNE

Organoleptic, chemical and bacterial characteristics
of meat and offals from beef cattle fed wet poultry
excreta

J. Food Protect. 41, 712 - 716 (1978 b)

SMITH, O.B., MACLEOD, G.K., MOWAT, D.N. & E.T. MORAN jr.

Effect of feeding organic acid treated hen excreta
upon performance, carcass merit and health of feedlot
cattle

J. Anim. Sci. 49, 1183 - 1189 (1979)

SMITHER, R., LOTT, A.F., DALZIEL, R.W. & D.C. OSTLER

Antibiotic residues in meat in the United Kingdom; an
assessment of specific tests to detect and identify
antibiotic residues

J. Hyg. Cam. 85, 359 - 369 (1980)

SNOEYENBOS, G.H., WEINACK, O.H. & C.F. SMYSER

Protecting chicks and poults from Salmonellae by oral
administration of "normal" gut microflora

Av. Dis. 22, 273 - 276 (1978)

dies. Further studies on competitive exclusion for controlling
Salmonellae in chickens

Av. Dis. 24, 904 - 908 (1979)

SPRECHER, E.

Arzneistoffproduktion durch Mikroorganismen

Teil 3: Produktion von Verbindungen des Sekundärstoff-
wechsels am Beispiel von Antibiotika

Dtsch. Apoth. Ztg. 122, 1016 - 1028 (1982)

ders. Arzneistoffproduktion durch Mikroorganismen

Teil 4: Produktion verschiedener Wirk- und Hilfsstoffe
sowie mikrobielle Stoffumwandlungen

Dtsch. Apoth. Ztg. 122, 1271 - 1279 (1982)

STAHL, E.

Dünnschicht-Chromatographie

Ein Laboratoriumshandbuch, 2. Auflage

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1967

STEGEMANN, H. & V. LOESCHCKE

Index Europäischer Kartoffelsorten

Mitteilung aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-
und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem H. 168 (1976)

STOLLE, A., TROEGER, K. & G. REUTER

Die isoelektrische Fokussierung in Polyacrylamidgel (PAGIF)
zur Erkennung von Veränderungen im Proteinhinmuster von unzu-
lässig gewonnenem Schweinefleisch (Scheinschlachtungen)
unter Berücksichtigung unterschiedlicher Reifungsstadien

Fleischwirtsch. 63 (1983) im Druck

STRAUCH, D. & W. MÖLLER

Untersuchungen über die Tenazität von Krankheitserregern in tierischen Fäkalien

2. Mittlg.: Die Tenazität von Salmonellen im Hühnerbatteriekot

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 81, 468 - 471 (1968)

STRAUCH, D. & H. SCHWAB

Hygienische Überprüfung eines neuen Verfahrens zur Überführung flüssiger tierischer Exkreme in einen umweltfreundlichen Feststoff mit hohem Nutzwert

Dtsch. tierärztl. Wschr. 81, 313 - 316 (1974)

STRAUCH, D., BAADER, W. & C. TIETJEN

Abfälle aus der Tierhaltung

Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1977

SURBROOK, T.C., BOYD, J.S. & H.C. ZIDEL

Drying animal wastes

Michigan State Univ. Agr. Exp. Station Res. Rep. No. 117, 16 (1970) Zit. n. Hennig, A. & S. Poppe (1976)

SYBESMA, W.

Die Messung des Unterschieds im Auftreten des Rigor mortis im Schinken

Fleischwirtsch. 46, 637 - 639 (1966)

SZUPERSKI, T., ROTKIEWICZ, T., TYWONCZUK, J. & C. LEWICKI

Morphologische Veränderungen einiger innerer Organe bei Bullen, die mit Zusatz von getrocknetem Schweinekot gefüttert wurden (poln.)

Weterynaria, Olsztyn Nr. 10, 151 - 157 (1978)

TAGARI, H.

Recycled animal waste as feedstuff. Economic importance,
processing data and nutritive value for ruminants

Refuah vet. 35, 123 - 146 (1978)

TAGG, J.R., DAJANI, A.S. & L.W. WANNAMAKER

Bacteriocins of gram-positive bacteria

Bacteriol. Rev. 40, 722 - 756 (1976)

TIESENHAUSEN, I.M.E.V., VILELA, H., PEREIRA, S.C., VELOSO, J.A.F. &
S. de SOUZA CAVALCANTI

Substitution of broiler litter or caged poultry manure
for cottonseed meal in the fattening diet of steers

Food Sci. technol. Abstr. 11, H. 3, 208 (1979)

TINNIMIT, P. & J.W. THOMAS

Percentage and source of protein for calves

J. Dairy Sci. 55, 703 (1972)

UNDERWOOD, E.J.

Trace elements in human and animal nutrition
3. Auflage

Academic Press, New York 1971

Van der WALL, G.

Weitere Erfahrungen mit der Abgrenzung lysozymbedingter
unspezifischer Reaktionen im allgemeinen Hemmstofftest

Arch. Lebensmittelhyg. 29, 235 (1978)

WASTI, S., SALMAN, F., SHAW, R. & C.T. SMITH

Detection of residues of rabon in manure of Rhode Island
red hens

J. Econ. Entomol. 63, 1355 - 1358 (1970)

WEBB jr., K.E. & J.P. FONTENOT

Medical drug residues in broiler litter and tissue
from cattle fed litter

Ref. J. Anim. Sci. 35, 278 (1972)

WEHUNT, K.E., FULLER, H.L. & H.M. EDWARDS jr.

The nutritional value of hydrolysed poultry manure
for broiler chickens

Poultry Sci. 39, 1057 - 1063 (1960)

WILSON, P.N. & T. BRIGSTOCKE

Recycling farm waste for animal feed

Agricultural Progress 52, 49 - 58 (1977)

WOERNLE, H.

Persönliche Mitteilung (1981)

N.N. Joint Consultative Organisation for Research and
Development in Agriculture and Food

Report of the Farm Waste Working Party, Para. 6.3, 63
(1976) Zit. n. Wilson, P.N. & T. Brigstocke (1977)

N.N. Rindersterben auf der Weide infolge Botulinum Toxin Typ D,
verursacht durch Geflügelmist (nl.)

Tijdschr. Diergeneesk. 106, 83 - 84 (1981)

FMV Futtermittelverordnung vom 16.6.1976

BGBI. I, 1497

3. Änd. VO zur FMV

Dritte Verordnung zur Änderung der Futtermittelver-
ordnung vom 19.7.1979

BGBI. I, 1122

- AB.A Ausführungsbestimmungen A über die Untersuchung und gesundheitspolizeiliche Behandlung der Schlachttiere und des Fleisches bei Schlachttieren im Inland, in der Fassung der Bekanntmachung vom 3. Feb. 1978 BGBl. I, 201
- FIBG Fleischbeschaugesetz, zuletzt geändert durch das Gesetz zur Änderung des FIBG und des Geflügelfleischhygienegesetzes vom 10. Mai 1980 BGBl. I, 545
- TGL - 24704 B1.2
Standard: Chemisch-physikalische Prüfung von Fleisch und Fleischerzeugnissen, Bestimmung des Wassergehaltes, Trockenschränkmethode
Zit. n. Rauscher, K., Engst, R. & U. Freimuth
Untersuchung von Lebensmitteln
VEB Fachbuchverlag Leipzig 1972
- DIN 10951 Sensorische Prüfverfahren; Dreiecksprüfung
Vorlage, Apr. 1973
- DIN 10950 Allgemeine Grundlagen der Sensorik; Begriffe
Nov. 1973
- DIN 10962 Raum für sensorische Prüfungen (Prüfraum); Anforderungen
Aug. 1981

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. G. Reuter, danke ich für die Überlassung des Themas, für zahlreiche, wertvolle Anregungen und die jederzeit gewährte, freundliche Unterstützung bei der Anfertigung meiner Dissertation.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. D. Schneider für die Überlassung von fütterungsanalytischen Daten und für wertvolle Hinweise, die immer gern gewährt wurden.

Herrn Prof. Dr. R. Levetzow und Herrn Dr. E. Weise danke ich für die Teilnahme an den sensorischen Prüfungen sowie für die stets kooperative Zusammenarbeit.

Frau Dr. G. Arndt möchte ich für Beratung und Hilfe bei der Auswertung danken.

Frau S. Nacke und Herrn B. Kaliebe danke ich für die technische Durchführung von mikrobiologischen und chemisch-analytischen Arbeiten.

Ebenso danke ich allen Mitarbeitern der Fachrichtung Fleischhygiene, die mir bei der Fertigstellung der Arbeit behilflich waren.

Lebenslauf

Name: Klaus Troeger

Geboren: 21. Juni 1949 in Hof/Saale, Kreis Hof, Bayern

Schulbildung: 1955 - 1961 Volksschule in Traunreut/Obb.

1961 - 1970 Oberschule in Traunstein

Abitur: 20. Juni 1970 am Chiemgau-Gymnasium in Traunstein

Studium: 1970 - 1974 Chemie an der Freien Universität Berlin

1974 - 1980 Veterinärmedizin an der Freien Universität
Berlin

Tierärztliche Prüfung: 22. Jan. 1980

Approbation: 12. März 1980

Seit 1. Okt. 1980 Tätigkeit als wissenschaftlicher
Mitarbeiter am Institut für Fleischhygiene der WE
Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie
der Freien Universität Berlin

